

ΦΘΑΛΙΚΟΙ ΕΣΤΕΡΕΣ ΣΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

της

ΔΕΔΑΚΗ ΜΑΡΙΑΣ - ΕΛΕΝΗΣ

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Σχολή Περιβάλλοντος

ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ



Αργοστόλι Κεφαλληνίας

ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2024

ΦΘΑΛΙΚΟΙ ΕΣΤΕΡΕΣ ΣΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

Η πτυχιακή εργασία εγκρίθηκε από:

ΚΑΤΣΑΛΗΡΟΥ ΕΙΡΗΝΗ

ΓΕΡΑΚΗΣ ΑΡΓΥΡΙΟΣ

ΦΡΑΓΚΟΣ ΝΑΣΟΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στόχος της εργασίας είναι η ανασκόπηση βιβλιογραφίας σχετικά με την εμφάνιση φθαλικών εστέρων στο ελαιόλαδο και των μεθόδων ανίχνευσής τους. Η ανίχνευσή πραγματοποιείται με την μέθοδο GC- MS/ MS. Ωστόσο έχουν προταθεί και άλλες μέθοδοι για την ανίχνευση φθαλικών εστέρων σε βρώσιμα φυτικά έλαια, όπως με GC- FID και HS- SPME ή αυτή με MS GC- triple quadrupole (QqQ). Από την ανασκόπηση προέκυψε ότι οι πιο κοινοί φθαλικοί εστέρες που συναντώνται στο ελαιόλαδο είναι ο φθαλικός δι- αιθυλεστέρας (DEHP), ο φθαλικός διϊσονονυλεστέρας (DINP), ο φθαλικός διϊσοδεκυλεστέρας (DIDP) και ο δις- (2- αιθυλεξυλ) εστέρας (DEHA). Το ελαιόλαδο έχει μεγάλη διατροφική και οικονομική σημασία και η συμβολή του στη συνολική διατροφική έκθεση σε φθαλικούς εστέρες μπορεί να είναι σχετική. Οι κυριότερες πηγές φθαλικών εστέρων στο ελαιόλαδο είναι οι συσκευασίες είτε πλαστικές είτε γυάλινες, τα εργαλεία συγκομιδής του καρπού της ελιάς και τα μηχανήματα παραγωγής ελαιολάδου. Οι φθαλικοί εστέρες είναι πανταχού παρόντες ρυπαντές στο περιβάλλον και στα καταναλωτικά προϊόντα. Χρησιμοποιούνται ως πλαστικοποιητές σε πολλά πλαστικά που χρησιμοποιούνται για συσκευασία και είδη για την επεξεργασία, το χειρισμό και την αποθήκευση τροφίμων. Ορισμένοι φθαλικοί εστέρες και οι μεταβολίτες τους είναι γνωστό ότι είναι τοξικοί για την αναπαραγωγή και το ενδοκρινολογικό σύστημα, και η έκθεση των καταναλωτών είναι ανησυχητική.

Λέξεις κλειδιά: Χημικές ενώσεις, Μέθοδοι ανίχνευσης, Επιμόλυνση, Ανθρώπινη υγεία, Φυτικά έλαια, Αποφυγή μετανάστευσης.

ABSTRACT

The aim of this thesis is to review the literature on the occurrence of phthalates in olive oil and their detection methods. However, other methods have been proposed to detect phthalates in edible vegetable oils, such as GC-FID and HS-SPME or MS GC-triple quadrupole (QqQ). The review showed that the most common phthalates found in olive oil are diethyl phthalate (DEHP), diisononyl phthalate (DINP), diisodecyl phthalate (DIDP) and bis- (2-ethylhexyl) ester (DEHA). Olive oil is of great nutritional and economic importance and its contribution to total dietary exposure to phthalates may be relative. The main sources of phthalates in olive oil are plastic or glass packaging, olive fruit harvesting tools and olive oil production machinery. They are used as plasticizers in many plastics used for packaging and items for processing, handling and storing food. Some phthalates and their metabolites are known to be toxic to reproduction and the endocrine system, and consumer exposure is alarming.

Keywords: Chemical compounds, Detection methods, Contamination, Human health, Vegetable oils, Avoidance of migration.

Περιεχόμενα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι.....	1
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1. Ελαιόδεντρο	3
1.2. Χημική σύσταση ελαιολάδου	4
1.3. Παράμετροι ποιότητας έξτρα παρθένου ελαιολάδου.....	4
1.4. Παράμετροι ασφάλειας ελαιολάδου.....	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙ	6
ΠΛΑΣΤΙΚΟΠΟΙΗΤΕΣ.....	6
2.1. Βασικές κατηγορίες πλαστικοποιητών	6
2.1.1 Χρήσεις φθαλικών πλαστικοποιητών	8
2.1.2. Φθαλικός δι- αιθυλεστέρας (DEP)	9
2.1.3. Φθαλικός δι-βουτυλεστέρας (DBP)	9
2.1.4. Φθαλικός δι-η-οκτυλεστέρας (DNOP).....	10
2.1.5 Φθαλικός δις (2-αιθυλεξυλ) εστέρας (DEHP)	10
2.2. Επιπτώσεις των φθαλικών εστέρων στην υγεία.....	11
2.2.1. Φθαλικοί εστέρες και αναπαραγωγή.....	11
2.2.2. Φθαλικοί εστέρες και καρκίνος.....	12
2.2.3. Φθαλικοί εστέρες και μεταβολικές διαταραχές.....	13
2.2.4. Φθαλικοί εστέρες και νευροτοξικότητα.....	14
2.2.5. Φθαλικοί εστέρες και ανοσοποιητικό σύστημα	14
2.3. Επιπτώσεις των φθαλικών εστέρων στο περιβάλλον.....	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ.....	16
ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΣΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ	16
3.1. Παράγοντες που επηρεάζουν την μετανάστευση των πλαστικοποιητών	16
3.2. Φθαλικοί εστέρες σε έλαια και λίπη.....	17
3.3. Αναλύσεις παρουσίας φθαλικών εστέρων στο ελαιόλαδο	18
3.4. Αποφυγή μετανάστευσης πλαστικοποιητών στο ελαιόλαδο	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙV	20
ΜΕΘΟΔΟΣ GC- MS/MS.....	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ V	23
ΜΕΘΟΔΟΣ GC- FID	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ VI	25
ΜΕΘΟΔΟΣ SPME ΚΑΙ MS- GC- TRIPLE QUADRUPOLE	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ VII.....	29
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ VIII	32

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	32
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	33
ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΕΣ ΠΗΓΕΣ	39

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι φθαλικοί εστέρες είναι μεταξύ των πιο κοινών οργανικών ρύπων τόσο στο περιβάλλον όσο και στα καταναλωτικά προϊόντα. Χρησιμοποιούνται ως πλαστικοποιητές, ιδιαίτερα οι ορθο φθαλικοί εστέρες, σε πολλές πλαστικές εφαρμογές, συμπεριλαμβανομένων των συσκευασιών και άλλων υλικών που έρχονται σε επαφή με τρόφιμα, όπως σωλήνες και εξαρτήματα εξοπλισμού που χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία, το χειρισμό και την αποθήκευση τροφίμων. Οι φθαλικοί εστέρες δεν συνδέονται χημικά με πολυμερείς αλυσίδες και συνεπώς μπορεί να μεταναστεύσουν με ρυθμούς και σε επίπεδα που εξαρτώνται από το είδος του προϊόντος και τις συνθήκες επαφής (Ροças, 2018). Πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι η επιμόλυνση των τροφίμων με φθαλικούς εστέρες μπορεί να συμβεί σε διαφορετικά στάδια της αλυσίδας παραγωγής και η επαφή με τη συσκευασία είναι στις περισσότερες περιπτώσεις, απλώς το τελευταίο βήμα, το οποίο στην πραγματικότητα μπορεί να μην είναι η αιτία της εμφάνισης φθαλικών εστέρων στο τρόφιμο. Οι φθαλικοί εστέρες χρησιμοποιούνται επίσης σε μη πλαστικά υλικά, όπως κόλλες και μελάνια. Η επαφή των τροφίμων με διάφορα υλικά συσκευασίας έχουν πολλές φορές ως συνέπεια την εμφάνιση πλαστικοποιητών όπως για παράδειγμα ο καφές μπορεί να επιμολυνθεί από τις κάψουλες (Di Bella et al., 2014) και τα λιπαρά τρόφιμα από τα παρεμβύσματα καπακίων (McCombie et al., 2015).

Ορισμένοι φθαλικοί εστέρες και οι μεταβολίτες τους είναι γνωστό ότι είναι τοξικοί για την αναπαραγωγή και διαταρράκτες του ενδοκρινικού συστήματος (Albert and Jégou, 2014, ECHA, 2017). Κατά συνέπεια, η έκθεση σε φθαλικούς εστέρες προκαλεί ανησυχία λόγω των πιθανών δυσμενών επιπτώσεων στην υγεία. Λόγω της ευρείας χρήσης τους, ο καταναλωτής εκτίθεται σε φθαλικούς εστέρες μέσω διαφορετικών οδών και από διαφορετικές πηγές. Η έκθεση προκύπτει από την κατάποση τροφής και σκόνης και από το στόμα μέσω χρήσης αντικειμένων, ιδιαίτερα στην περίπτωση βρεφών και μικρών παιδιών. Η έκθεση προκύπτει επίσης από εισπνοή αέρα και σκόνης και από δερματική επαφή με αντικείμενα. Οι κύριες πηγές έχουν θεωρηθεί ότι είναι τα τρόφιμα, το εσωτερικό περιβάλλον και η άμεση επαφή με αντικείμενα (ECHA, 2017). Αλλά η έκθεση σε διαφορετικούς φθαλικούς εστέρες

μπορεί να έχει διαφορετικές κύριες οδούς και πηγές σύμφωνα με διαφορετικά πρότυπα εφαρμογής.

Οι φθαλικοί εστέρες είναι κυρίως διαλυτοί στο λίπος, επομένως η εμφάνιση σε λιπαρά τρόφιμα και έλαια προκαλεί ανησυχία, όπως αντικατοπτρίζεται στους περιορισμούς χρήσης στην ευρωπαϊκή νομοθεσία για πλαστικά που έρχονται σε επαφή με τρόφιμα. Τα φυτικά έλαια συνήθως καταναλώνονται ως έχουν σε μικρές ποσότητες. Ωστόσο, χρησιμοποιούνται σε πολλά τρόφιμα ως συστατικά, καρυκεύματα ή μέσα μαγειρέματος. Κατά συνέπεια, η συμβολή τους στη διατροφική έκθεση σε φθαλικούς εστέρες μπορεί να είναι σχετική. Ιδιαίτερα το ελαιόλαδο έχει μεγάλη σημασία στη μεσογειακή διατροφή λόγω των μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών. Αν και είναι ένα από τα έλαια με χαμηλότερο μερίδιο όγκου στο διεθνές εμπόριο, κατέχει την τρίτη θέση σε αξία, μετά το φοινικέλαιο και το σογιέλαιο. Το ελαιόλαδο έχει θεωρηθεί ως προτεραιότητα για την παρακολούθηση πλαστικοποιητών σε πολλές χώρες. Η εμφάνιση φθαλικών εστέρων σε φυτικά έλαια συμπεριλαμβανομένου του ελαιολάδου στην ευρωπαϊκή αγορά έχει αναφερθεί για την Ιταλία (Dugo et al., 2011, Nanni et al., 2011) και την Ελλάδα (Ierapetritis et al., 2014). Επίσης στις ΗΠΑ (Bi et al., 2013), την Τουρκία (Sungur et al., 2015) και την Κίνα μεταξύ άλλων ασιατικών χωρών. Στην Ευρώπη πρόσφατες μελέτες για την έκθεση σε φθαλικούς εστέρες περιλαμβάνουν το Ηνωμένο Βασίλειο (Bradley et al., 2013), το Βέλγιο (Fierens et al., 2012) και τη Νορβηγία (Sakhi et al., 2014). Ωστόσο, αυτές οι έρευνες δεν παρουσιάζουν συγκεκριμένα στοιχεία για την εμφάνιση φθαλικών εστέρων στο ελαιόλαδο, αλλά για τα λίπη και τα έλαια ως ομάδες τροφίμων. Επομένως, δεν υπάρχουν διαθέσιμα πρόσφατα στοιχεία για την εμφάνιση φθαλικών εστέρων στο ελαιόλαδο στην Ευρώπη.

1.1. Ελαιόδεντρο

Το δέντρο της ελιάς, συνυφασμένο με το μεσογειακό τοπίο, έπαιξε και παίζει σημαντικό ρόλο στην οικονομία, στην υγεία αλλά και στην κουζίνα των κατοίκων της Μεσογείου. (Boskou, 2006). Είναι γνωστός επίσης ο ρόλος του και στην αρχαιότητα διότι οι άνθρωποι το χρησιμοποιούσαν για την λατρεία στους θεούς, στην φροντίδα και τιμή των νεκρών αλλά και στον αρχαίο αθλητισμό. Ήταν σπουδαίο κομμάτι και στην αρχαία ιατρική όπως εξακολουθεί να είναι ακόμα και σήμερα ως φυσικό φάρμακο για διάφορες ασθένειες διότι είναι διαδεδομένο για τις θεραπευτικές του ιδιότητες.

Στην Ελλάδα, η ελιά καταλαμβάνει την μεγαλύτερη έκταση από κάθε άλλο οπωροφόρο δέντρο και παράγει την μεγαλύτερη ποσότητα καρπού. Σημαντικές ποσότητες παράγουν και οι υπόλοιπες Μεσογειακές χώρες Ισπανία, Ιταλία, Ελλάδα, Τουρκία, Τυνησία, Συρία, Αίγυπτος και Αλγερία (Βασιλακάκης, 2016).

Η ελιά είναι το κοινό όνομα 35 ειδών αειθαλών θάμνων και δέντρων του γένους *Olea* που ανήκει στην οικογένεια *Oleaceae*. Με το όνομα αυτό συνδέεται κυρίως η *Olea europaea* η οποία είναι η πιο διάσημη που έδωσε τις περισσότερες καλλιεργούμενες ποικιλίες και καλλιεργείται για τα βρώσιμα φρούτα της. Οι ελιές που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή λαδιού έχουν χαμηλότερη αναλογία σάρκας / πυρήνα (4:1 - 7:1) σε σχέση με τις ελιές που είναι κατάλληλες για επιτραπέζια χρήση (7:1 - 10:1). Επίσης σημαντικό είναι ότι ακόμα και το υποπροϊόν της ελιάς, ο σπόρος ελιάς χρησιμοποιήθηκε ως τροφή για κατοικίδια, ως λίπασμα και ως καύσιμο (Boskou, 2006). Παρόλο που το ελαιόλαδο έχει μικρό μερίδιο στα βρώσιμα φυτικά έλαια (περίπου 3,5%) έπαιξε και παίζει σημαντικό ρόλο ως εμπόρευμα στην παγκόσμια αγορά (Boskou, 2006).

Η Ελλάδα έχει την πρώτη θέση παγκοσμίως στην κατά κεφαλήν κατανάλωση ελαιολάδου που ανέρχεται στα 18 kg ανά έτος. Η Ε.Ε. παράγει την μεγαλύτερη ποσότητα ελαιολάδου αφού οι μεσογειακές χώρες παράγουν το 77% της παγκόσμιας παραγωγής (<https://www.oliveoiltimes.com/world/greeks-leading-olive-oil-guzzlers/35304>)

1.2. Χημική σύσταση ελαιολάδου

Τα τριγλυκερίδια αποτελούν την πιο σημαντική ομάδα λιπών στο ελαιόλαδο δηλαδή τριεστέρων της γλυκερόλης με ανώτερα λιπαρά οξέα. Τα λιπαρά οξέα μπορεί να είναι ακόρεστα ή κορεσμένα τα οποία κορεσμένα περιέχονται σε μικρότερο ποσοστό. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα έχουν ισορροπημένη σύσταση και αυτά είναι: το ελαϊκό οξύ, το λινολεϊκό και το λινολενικό. Επίσης περιέχει ποσότητες από βιταμίνες όπως βιταμίνη E, A και D (Del Fabro, 2009) άλλα και συστατικά που προέρχονται από τον ελαιόκαρπο ή σχηματίζονται κατά την παραλαβή του και αυτά είναι τα εξής:

- ελεύθερα λιπαρά οξέα
- φωσφολιπίδια
- στερόλες
- αλειφατικές αλκοόλες
- φαινόλες
- τοκοφερόλες
- χρωστικές
- πτητικές οργανικές ενώσεις
- ρητινώδεις και ζελατινώδεις ουσίες

Τα παραπάνω συστατικά διακρίνονται σε σαπωνοποιήσιμα (98-99,5% των συστατικών) και σε ασαπωνοποιήτα (Κυριτσάκης, 2007).

1.3. Παράμετροι ποιότητας έξτρα παρθένου ελαιολάδου

Η ποιότητα του ελαιολάδου μπορεί να μετρηθεί με φυσικοχημικές μεθόδους αλλά και να αξιολογηθεί από ειδικούς δοκιμαστές οργανοληπτικά. Τα βασικά κριτήρια για την αξιολόγηση της ποιότητας του ελαιολάδου είναι:

- η οξύτητα (με βάση αυτό το κριτήριο το ελαιόλαδο διακρίνεται σε φαγώσιμο ή βιομηχανικό, όμως δεν μπορούμε να βασιζόμαστε μόνο σε αυτό το κριτήριο)
- ο αριθμός υπεροξειδίων (βασικό κριτήριο ελέγχου του βαθμού οξείδωσης του ελαιόλαδου)
- η απορρόφηση στο υπεριώδες {(K232, K270, ΔK) κριτήριο για τον έλεγχο της ποιοτικής κατάστασης του ελαιόλαδου και για τον προσδιορισμό του βαθμού της οξειδωτικής του αλλοίωσης}

- η οργανοληπτική αξιολόγηση (γίνεται από ειδικευμένα άτομα, όμως αυτή η μέθοδος έχει ως μειονέκτημα ότι υπάρχει το υποκείμενο στοιχείο του κάθε δοκιμαστή)

Το κάθε ένα από τα παραπάνω κριτήρια αξιολογεί κάτι διαφορετικό όμως πρέπει να λαμβάνονται όλα υπόψη για την σωστή αξιολόγηση του ελαιολάδου.(Κυριτσάκης, 2007).

1.4. Παράμετροι ασφάλειας ελαιολάδου

- Φυτοφάρμακα
- Βενζο-α-πυρένιο
- Πλαστικοποιητές

Οι πλαστικοποιητές αλλιώς ονομάζονται φθαλικοί εστέρες και η μόλυνση του ελαιολάδου οφείλεται στην επαφή του με ακατάλληλους για την διακίνηση ελαιολάδου πλαστικούς εύκαμπτους σωλήνες ή στην αποθήκευση του σε ακατάλληλες πλαστικές δεξαμενές ή δοχεία.

- Μέταλλα- Βαρέα μέταλλα
- Αλογονομένοι διαλύτες

(Kiralán et al., 2020)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ II

ΠΛΑΣΤΙΚΟΠΟΙΗΤΕΣ

Οι φθαλικοί εστέρες (πλαστικοποιητές) είναι βιομηχανικές χημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται σε διάφορες εφαρμογές. Συνήθως υπάρχουν σε εύκαμπτα πλαστικά που κατά κύριο λόγο χρησιμοποιούνται για υλικά συσκευασίας. Το πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC) βρίσκει εφαρμογή ως φιλμ και φύλλα για την κατασκευή φιαλών στην συσκευασία τροφίμων. Επίσης οι φθαλικοί εστέρες μπορεί να βρεθούν σε μελάνια με βάση διαλύτες, αυτά τα μελάνια όμως χρησιμοποιούνται και σε συσκευασίες τροφίμων. Λόγω του ότι έχουν χαμηλό μοριακό βάρος έχουν την τάση να μεταναστεύουν από την συσκευασία στο τρόφιμο. Πλαστικοποιητές όπως τα αδιπικά και τα φθαλικά ιόντα μεταναστεύουν εύκολα από την συσκευασία σε λιπαρά τρόφιμα. Λόγω του ότι τα φυτικά έλαια είναι πολύ σημαντικά στην ανθρώπινη διατροφή και παρόντα σε όλα σχεδόν τα τρόφιμα, κάνουν και την επιμόλυνση του ανθρώπου από αυτές τις τοξικές ουσίες πιο συχνή (Preedy και Watson, 2010).

Οι πλαστικοποιητές είναι απειλητικοί για την ανθρώπινη υγεία καθώς έχουν αρνητικές επιπτώσεις στο ήπαρ, στα νεφρά, στο αναπαραγωγικό σύστημα και δημιουργούν ενδοκρινικές διαταραχές. Η μόλυνση μπορεί να συμβεί μέσω διαφόρων οδών, όμως η διατροφική πρόσληψη είναι η κύρια και βασικότερη οδός (Nriagu, 2019).

2.1. Βασικές κατηγορίες πλαστικοποιητών

Οι κυριότερες φθαλικές ενώσεις που συναντώνται συχνά στην καθημερινότητα μας και ταυτόχρονα μπορεί να είναι υπεύθυνες για ενδοκρινικές διαταραχές, προβλήματα αναπαραγωγής ακόμη και σε αγέννητα παιδιά, είναι:

- Φθαλικός δι- μεθυλεστέρας (DMP)
- Φθαλικός δι- αιθυλεστέρας (DEP)
- Φθαλικός δι- βουτυλεστέρας (DBP)
- Φθαλικός δι- n- οκτυλεστέρας (DNOP)
- Φθαλικός δις- (2αιθυλ) εξυλεστέρας (DEHP) (Βαλαβανίδης, 2006)

Τα βασικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους διαφέρουν μεταξύ των ειδών και αναφέρονται αναλυτικά στον (Πίνακα 2.1).

Πίνακας 2.1. Περιγράφονται τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των πιο κοινών πλαστικοποιητών (OSHA, 1994).

	Φθαλικός δι-μεθυλεστέρας (DMP)	Φθαλικός δι-αιθυλεστέρας (DEP)	Φθαλικός δι-βουτυλεστέρας (DBP)	Φθαλικός δι-n-οκτυλεστέρας (DNOP)	Φθαλικός δις-(2αιθυλ)εξυλεστέρας (DEHP)
Εμφάνιση	άχρωμο έως ωχροκίτρινο ελαιώδες υγρό	άχρωμο υγρό	άχρωμο έως ελαφρώς κίτρινο ελαιώδες υγρό	ανοιχτόχρωμο υγρό	άχρωμο ελαιώδες υγρό
Οσμή	ελαφρώς αρωματική οσμή	άοσμο	αδύναμη αρωματική οσμή	άοσμο	σχεδόν άοσμο
Ειδικό βάρος (g/cm³)	1,1905	1,1175	1,046	0,9861	0,981
Μοριακός τύπος	C ₆ H ₄ (COOCH ₃) ₂	C ₆ H ₄ (COOC ₂ H ₅) ₂	C ₆ H ₄ (COOC ₄ H ₉) ₂	C ₆ H ₄ (COOC ₈ H ₁₇) ₂	C ₆ H ₄ (CO ₂ C ₈ H ₁₇) ₂
Μοριακό βάρος (g)	194,19	222,24	278,35	390,6	390,6
Σημείο τήξης (°C)	0-2	-41	-35	-30	-55

Σημείο βρασμού (°C)	284	298	340	220	384
Διαλυ- τότητα	διαλυτό σε βενζόλιο, αιθέρα, αλκοόλη και χλωροφόρμιο. Ελαφρώς διαλυτό σε ορυκτέλαια, πρ ακτικά αδιάλυτο σε πετρελαϊκό αιθέρα και άλλους υδρογονάνθρακ ες παραφίνης [EK1]	διαλυτό σε αλκοόλη, αιθέρα, ακετόνη, βενζόλιο και ελαφρώς διαλυτό σε αλειφατικούς διαλύτες	διαλυτό σε ακετόνη, βενζόλιο, αλκοόλη, αιθέρα και άλλους οργανικούς διαλύτες	διαλυτό σε ορυκτέλαιο, αιθανόλη, βενζόλιο και διμεθυλοσουλ- φοξείδιο	διαλυτό σε εξάνιο και ορυκτέλαια

2.1.1 Χρήσεις φθαλικών πλαστικοποιητών

Ο φθαλικός διμεθυλεστέρας (DMP) χρησιμοποιείται σε συνθέσεις οξικής κυτταρίνης. Το φύλλο της οξικής κυτταρίνης χρησιμοποιείται για την παραγωγή πολυστρωματικού γυαλιού ασφαλείας. Όταν ο DMP βρίσκεται σε συνδυασμό με τον φθαλικό διαιθυλεστέρα (DEP) χρησιμοποιείται ως υγρό μεταφοράς θερμότητας αλλά και σε ταινίες, βερνίκια, ακετόνη, διαφανές χαρτί, σκόνη χύτευσης και σε σύνθετους υαλοπίνακες.

Ο φθαλικός διμεθυλεστέρας πλαστικοποιεί οξικό πολυβινύλιο και καουτσούκ αλλά δεν χρησιμοποιείται με ρητίνες πολυβινυλίου όπως το πολυβινυλοχλωρίδιο. Επίσης, βρίσκεται στα συστατικά της επίστρωσης, της συσκευασίας τροφίμων, των καλλυντικών, των λιπαντικών, των διακοσμητικών υφασμάτων κ.α.

Είναι χαμηλής έως μέτριας τοξικότητας αν όμως καταποθεί σε μεγάλη ποσότητα προκαλεί γαστρεντερικό ερεθισμό, κατάθλιψη νευρικού συστήματος που μπορεί να φτάσει μέχρι το κώμα ή την υπόταση, επίσης είναι ερεθιστικό για τα μάτια και τους βλεννογόνους. (OSHA, 1994).

2.1.2. Φθαλικός δι- αιθυλεστέρας (DEP)

Ο φθαλικός διαιθυλεστέρας χρησιμοποιείται στην κατασκευή αντικειμένων όπως οι οδοντόβουρτσες, τα εξαρτήματα αυτοκινήτων, οι λαβές εργαλείων, τα παιχνίδια και τα είδη ένδυσης (π.χ. σακάκια, αδιάβροχα, μπότες). Επίσης υπάρχει ως συστατικό σε καλλυντικά σκευάσματα (π.χ. λάδια, δισκία, άλατα μπάνιου, σκιές ματιών, κολώνιες, αρώματα, σπρέι μαλλιών, βερνίκια, διαλυτικά νυχιών, σαπούνια μπάνιου, απορρυπαντικά, λοσιόν για μετά το ξύρισμα και παρασκευάσματα για την περιποίηση του δέρματος). Επίσης χρησιμοποιείται και σε εντομοκτόνα, σε λιπαντικά στην επιφάνεια τροφίμων και φαρμακευτικών συσκευασιών.

Ο άνθρωπος μπορεί να εκτεθεί από την αναπνοή μολυσμένου αέρα, από την κατανάλωση τροφίμων στα οποία έχει διυλιστεί φθαλικός διαιθυλεστέρας, από υλικά συσκευασίας, από κατανάλωση μολυσμένων θαλασσινών, από την κατάποση μολυσμένου νερού, αλλά και από ιατρική θεραπεία που περιλαμβάνει την χρήση σωλήνων PVC (αιμοκάθαρση) όμως δεν έχει εντοπιστεί να προκαλεί κάποιο σοβαρό πρόβλημα στον άνθρωπο παρά μόνο σε νεογέννητους αρουραίους που η μητέρα είχε καταναλώσει για μεγάλο χρονικό διάστημα DEP. (OSHA, 1994).

2.1.3. Φθαλικός δι-βουτυλεστέρας (DBP)

Ο Φθαλικός δι-βουτυλεστέρας (DBP) χρησιμοποιείται σε πλαστικά νιτροκυτταρίνης, σε βερνίκια νυχιών, σε εκρηκτικά, σε τσιμέντα, σε ρητίνες χύτευσης, σε χλωριωμένο καουτσούκ, σε χρωστικές ουσίες, ως πρόσθετο σε κόλλες, ως πρόσθετο σε τυπογραφικά μελάνια και ως εντομοαπωθητικό. Είναι πιο ανθεκτικός στο νερό σε σχέση με τον DMP και τον DEP.

Μπορεί να περιέχεται στα τρόφιμα μέσω της μετανάστευσης από κάποιο υλικό που ήρθε σε επαφή με το τρόφιμο ή από τρόφιμο που ήδη περιέχει DBP διότι η παρουσία του υπάρχει στον αέρα, στο νερό, στο έδαφος και στα τρόφιμα. (OSHA, 1994).

2.1.4. Φθαλικός δι-η-οκτυλεστέρας (DNOP)

Ο Φθαλικός δι-η-οκτυλεστέρας (DNOP) όταν χρησιμοποιείται ως πλαστικοποιητής για την νιτρική κυτταρίνη παράγει ταινίες που είναι πιο ευέλικτες, με υψηλή αντοχή και σταθερότητα στο φως με το πέρασμα του χρόνου. Επίσης είναι καλός πλαστικοποιητής για το συνθετικό ελαστικό καουτσούκ και έχει καλές ηλεκτρικές ιδιότητες.

Η έκθεση του ανθρώπου σε αυτόν συμβαίνει στον χώρο εργασίας όπου αυτή η ένωση χρησιμοποιείται. Έχουν παρατηρηθεί προβλήματα αναπαραγωγής σε αρσενικά ζώα που εκτίθενται στην κατανάλωση DNOP όμως φάνηκε πως με την διακοπή της κατανάλωσης η αναπαραγωγή επιστρέφει σε σχεδόν φυσιολογικά επίπεδα, ίσως αυτό το πρόβλημα να δημιουργείται και στον άνθρωπο όμως δεν υπάρχουν επαρκής αποδείξεις γι' αυτό. (OSHA, 1994).

2.1.5 Φθαλικός δις (2-αιθυλεξυλ) εστέρας (DEHP)

Ο φθαλικός δις(2-αιθυλεξυλ)εστέρας (DEHP) λόγω της υψηλής του αποδοτικότητας και σταθερότητας χρησιμοποιείται ως πλαστικοποιητής για ρητίνες βινυλίου, κυρίως πολυβινυλοχλωριδίου (PVC). Διαθέτει 2 σημαντικά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τον DBP οι οποίες είναι:

1. Μεταβλητότητα λιγότερο από το ένα εικοστό του DBP
2. Εξαιρετικά χαμηλή διαλυτότητα στο νερό

Έχει καλές ηλεκτρικές ιδιότητες γι' αυτό χρησιμοποιείται για κατασκευή καλωδίων, επίσης χρησιμοποιείται στην κατασκευή φαρμακευτικών συσκευασιών, σε οικοδομικά υλικά, σε ρούχα, σε είδη αυτοκινήτων, σε βερνίκια, μπογιές, κόλλες και μελάνια εκτύπωσης. (Φουντουλάκης, 2005). Η μόλυνση των τροφίμων από αυτόν μπορεί να γίνει κατά την επεξεργασία, το χειρισμό, τη μεταφορά, την αποθήκευση των τροφίμων και μέσω των δευτερευόντων αντικειμένων αποθήκευσης των τροφίμων. Δηλαδή, κατά την διάρκεια της μεταποίησης των τροφίμων μπορεί να μολυνθούν μέσω των σωλήνων PVC και από ό,τι άλλο αντικείμενο περιέχει DEHP. Επίσης, μπορεί να επιμολυνθούν από μελάνια που χρησιμοποιούνται στη συσκευασία τροφίμων, από κόλλες που χρησιμοποιούνται για χαρτί και πλαστικά, από το

αλουμίνιο, τα ελάσματα φύλλων χαρτιού και από την σφραγίδα κλεισίματος στις φιάλες. (OSHA,1994).

2.2. Επιπτώσεις των φθαλικών εστέρων στην υγεία

Οι πλαστικοποιητές έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να προκαλέσουν διαταραχές ενδοκρινικές, αναπαραγωγής, υγείας του εμβρύου ,των βρεφών, των παιδιών και των ενηλίκων. Οι πλαστικοποιητές έχουν ανιχνευθεί σε όργανα του ανθρώπινου σώματος και στο κυκλοφορικό σύστημα, όπως επίσης και στα ούρα, το μητρικό γάλα, το αμνιακό υγρό, το σπέρμα, το σάλιο,τον ιδρώτα, τα μαλλιά και τα νύχια. Οι ορμόνες του θυρεοειδή και οι αναπαραγωγικές ορμόνες είναι οι πιο ευαίσθητες στους φθαλικούς εστέρες. Οι τρόποι που μπορεί ένας οργανισμός να εκτεθεί σε αυτούς είναι η κατάποση, η εισπνοή (διότι το νερό, τα τρόφιμα και τα ποτά μπορούν να μολυνθούν από φθαλικούς εστέρες μέσω της επεξεργασίας, της παραγωγής τους και της συσκευασίας τους), η απορρόφηση από το δέρμα και ενδοφλέβια. Επίσης τα βρέφη μπορεί να μολυνθούν μέσω της κατανάλωσης μητρικού γάλακτος, μέσω ορισμένων παιχνιδιών ή είδη μωρών που τοποθετούνται στο στόμα τους, από προϊόντα όπως βρεφικές λοσιόν, σκόνες και σαμπουάν. Τέλος, ακόμα και ο εσωτερικός αέρας μπορεί να μολυνθεί με φθαλικούς εστέρες λόγω της παρουσίας προϊόντων στο χώρο που περιέχουν φθαλικούς εστέρες. (Nriagu, 2019).

2.2.1. Φθαλικοί εστέρες και αναπαραγωγή

Η υπογονιμότητα στα χρόνια που ζούμε έχει θέσει πολλούς ερευνητές να μελετήσουν τους λόγους που συμβαίνει αυτό και ιδιαίτερα στον ανδρικό πληθυσμό, ένας λόγος που φαίνεται να είναι υπεύθυνος είναι η έκθεση των ανθρώπων σε φθαλικούς εστέρες. Οι μελέτες που έγιναν από τους Minguez-Alarcon σε έναν πληθυσμό Αμερικανών ανδρών που εκτίθενται σε φθαλικούς εστέρες έδειξε πως οι φθαλικοί εστέρες παίζουν ρόλο στη διαμόρφωση των λειτουργιών των κυττάρων τα οποία είναι υπεύθυνα για τη σπερματογένεση, τη στερογένεση και τη δομική και μεταβολική υποστήριξη των αναπτυσσόμενων γεννητικών κυττάρων με αποτέλεσμα την αναπαραγωγική ανεπάρκεια (Meehan,Schlatt), (Wang, Zhou), (Willems, De).

Οι φθαλικοί εστέρες ρυθμίζουν αρνητικά τις ορμονικές λειτουργίες και οδούς (Caporossi et al., 2020; Den Hond et al., 2015) με αποτέλεσμα να παρεμβαίνουν στα οιστρογόνα και τις θυρεοειδικές ορμόνες (Botelho et al., 2009; Ghisari et al., 2009) και να θεωρούνται ορμονικοί διαταράκτες.

Στον ανδρικό πληθυσμό οι φθαλικοί εστέρες είναι υπεύθυνοι για το λεγόμενο “σύνδρομο των όρχεων” προκαλώντας κρυπορχία (Wang et al., 2018), μειωμένη πρωκτογεννητική απόσταση, στειρότητα (Caporossi et al., 2020) και καρκίνο των όρχεων. (Sharpe and Skakkebaek, 2008).

Έχει αναφερθεί ότι σε μια έγκυο μητέρα οι φθαλικοί εστέρες μπορεί να διασχίσουν τον πλακούντα (Long et al., 2019) και φτάνουν στον ομφάλιο λώρο (Mose T., Mortensen G.K.) και στο αμνιακό υγρό (Silva M.J., Herbert A.R.) με αποτέλεσμα να επηρεαστεί η μεταγεννητική-προγεννητική ανάπτυξη του εμβρύου (Long et al., 2019).

Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι συνδέονται με μειωμένο χρόνο κύησης του εμβρύου (Latini et al., 2013), με ατροφία των ωοθυλακίων (Agarwal et al., 2005), με ενδομητρίωση (Upson et al., 2013), με υπογονιμότητα (Absalan et al., 2017) με την εφηβική ανάπτυξη (Frederiksen et al., 2012) και με μειωμένη απόδοση ωαρίων. Επίσης, η παρουσία φθαλικών εστέρων εντοπίστηκε και στο μητρικό γάλα με αποτέλεσμα να εκτίθεται το βρέφος σε αυτούς τους μολυσματικούς παράγοντες (Main et al., 2006).

2.2.2. Φθαλικοί εστέρες και καρκίνος

Οι φθαλικοί εστέρες έχουν συνδεθεί με αρκετούς καρκίνους όπως, καρκίνο του δέρματος, του ήπατος, του προστάτη και του μαστού (Fiore et al., 2019; Miao et al., 2017; Zhu et al., 2018).

Στο Μεξικό έγινε μια μελέτη και εντοπίστηκε πως οι γυναίκες με καρκίνο του μαστού είχαν πιο αυξημένο ποσοστό πλαστικοποιητών στον οργανισμό τους από τις υγιείς γυναίκες. Οι φθαλικοί εστέρες στοχεύουν στον θυρεοειδή αδένα επομένως φαίνεται να έχουν σημαντικό ρόλο στον καρκίνο του θυρεοειδούς διότι μπορούν να ενεργοποιήσουν τον υποδοχέα οιστρογόνων και να προκαλέσουν αγγειογένεση (Zuccarello et al., 2018).

Επίσης, έχει φανεί πως παρεμβαίνουν στα γονίδια που έχουν να κάνουν με τον κυτταρικό κύκλο και είναι υπεύθυνοι για τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του προστάτη (Zhu et al., 2018).

2.2.3. Φθαλικοί εστέρες και μεταβολικές διαταραχές

Με βάση τα ιατρικά δεδομένα είναι γνωστό πως η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι κοινό χαρακτηριστικό διαφόρων ασθενειών όπως, του διαβήτη τύπου 2, της αθηροσκλήρωσης, της μη αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου και της ανάπτυξης παχυσαρκίας. (Maradonna and Carnevali, 2018). Μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στις ΗΠΑ φάνηκε πως ο φθαλικός εστέρας MBP έχει σχέση με την κακή έκκριση ινσουλίνης και οι MEP και MMP στην αντίσταση στην ινσουλίνη. (Lind et al., 2012). Μια μελέτη που έγινε πρόσφατα διερευνήθηκε ο πιθανός ρόλος των PAEs στην αντίσταση της ινσουλίνης και τον κίνδυνο ανάπτυξης παχυσαρκίας και μη αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου. Η μελέτη αυτή τελικά έδειξε ότι οι PAEs σχετίζονται με υπεργλυκαιμία η οποία είναι ένας παράγοντας κινδύνου για την αρχική φάση της λιπώδους ηπατικής νόσου, η μελέτη αυτή έγινε σε εθελοντές και των δύο φύλων, συγκεκριμένα σε ασθενείς που πάσχουν από παχυσαρκία ή σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, αλλά και σε μη παχύσαρκους και μη διαβητικούς. Η αντίσταση της ινσουλίνης από φθαλικούς εστέρες εξαρτάται από την ικανότητα τους να προκαλούν μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και οξειδωτικό στρες, οδηγώντας στην έναρξη της νόσου. Από κάποιες επιδημιολογικές μελέτες φαίνεται πως υπάρχει μια παχυσαρκική δραστηριότητα των PAEs η οποία όπως φαίνεται έχει να κάνει με το φύλο και την ηλικία. Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως βρέθηκε σπλαχνική παχυσαρκία επίσης και σε υγιή άτομα φυσιολογικού βάρους. Το PPAR είναι βασικός παράγοντας στην ομοιόσταση λιπιδίων και γλυκόζης (Evans et al., 2004), η εμπλοκή φθαλικού οξέος σε μεταβολικές διαταραχές πιθανώς έχει σχέση με τη δέσμευση τους με το PPAR α , γ , το γ σχετίζεται με την λιπογένεση και ελέγχεται από νευροενδοκρινικές οδούς που εμπλέκονται στον άξονα υποθαλάμου, υπόφυσης, επινεφριδίων (Grun et al., 2009), αλλά και σε άλλους υποδοχείς στεροειδών ορμονών, υποδοχείς θυρεοειδικής ορμόνης, υποδοχείς ρετινοειδούς X, υποδοχείς X ήπατος και υποδοχείς φαρνεσοειδούς X (Maradonna and Carnevali, 2018). Άλλοι μηχανισμοί που είναι συνδεδεμένοι με την λιπογένεση που προκαλείται από φθαλικό εστέρα μπορεί να

περιλαμβάνουν την αλληλεπίδρασή τους με τους διαύλους θυρεοειδικών ορμονών, τους υποδοχείς ανδρογόνων και οιστρογόνων και τους υποδοχείς πρεγνανίου Χ (Johns et al., 2015).

2.2.4. Φθαλικοί εστέρες και νευροτοξικότητα

Παρόλο τις λίγες έρευνες που υπάρχουν σχετικά με τις νευροτοξικές επιδράσεις των φθαλικών εστέρων έχει παρατηρηθεί ότι παιδιά ηλικίας 3 ετών που έχουν εκτεθεί στον PAE έχουν επηρεαστεί αρνητικά στην γνώση (IQ) (Li et al., 2019; Radke et al., 2020). Επίσης έχουν υπάρξει στοιχεία ότι παιδιά στην προγεννητική φάση που έχουν εκτεθεί στο DINP έχουν παρουσιάσει προβλήματα στις ψυχοκινητικές δεξιότητες τους (Polanska et al., 2014). Το DEHP θα μπορούσε να προκαλέσει τερατογενέσεις στο έμβρυο λόγω της ικανότητας τους να μπορεί να διασχίζει τον πλακούντα (Lin et al., 2015). Υπερκινητικότητα και έλλειψη προσοχής μπορεί να προκαλέσει η έκθεση σε MnBP. Η νευροτοξικότητα μπορεί να προέλθει και από την παραγωγή ROS που προκαλείται από τους φθαλικούς εστέρες και την μείωση της ρύθμισης στον ιπόκαμπο, του νευροτροφικού παράγοντα που προέρχεται από τον εγκέφαλο ο οποίος είναι βασικός παράγοντας για την ανάπτυξη δενδριτών που σχετίζονται με τις γνωστικές και μαθησιακές λειτουργίες. Η χαμηλή έκθεση σε DEHP μείωσε την πυκνότητα δενδριτικής σπονδυλικής στήλης.

2.2.5. Φθαλικοί εστέρες και ανοσοποιητικό σύστημα

Οι φθαλικοί εστέρες περιλαμβάνουν μια ομάδα ξενοβιοτικών που μιμούνται φυσικές ορμόνες που είναι υπεύθυνες για την κανονική λειτουργία του σώματος , όπως ανάπτυξη, αναπαραγωγή, ομοιόσταση και συμπεριφορά (Butala et al., 2004). Όταν έγιναν μελέτες για την επίδραση των φθαλικών εστέρων στις ανοσοαποκρίσεις δεν προέκυψαν σίγουρα αποτελέσματα, μερικές έρευνες έδειξαν την ενίσχυση των ανοσολογικών αντιδράσεων ή των φλεγμονωδών αντιδράσεων, άλλες μελέτες δεν έδειξαν κανένα αποτέλεσμα και άλλες έδειξαν ανασταλτική ή ανοσοκατασταλτική επίδραση (Kimber and Dearman, 2010; Larsen and Nielsen, 2008; Lee et al., 2004). Μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Greene et al. (2017) έδειξε ότι το DEHP μπορεί να δράσει στην ανάπτυξη της ενδομητρίωσης (Greene et al., 2017). Πολλές

μελέτες έχουν δείξει ότι οι επικουρικές επιδράσεις των φθαλικών εστέρων είναι πιθανόν να ευθύνονται για αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης αλλεργιών και άσθματος (Jaakkola and Knight, 2008) και σε διαφορετικές δόσεις τα MEHP, MNOP και MINP να έχουν ανοσοκατασταλτικά και ανοσοενισχυτικά αποτελέσματα (Larsen et al., 2001). Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω οι φθαλικοί εστέρες παίζουν σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση αλλεργιών (Glue et al., 2005). Η μελέτη των Larsen και Nielsen (2008) έδειξε ότι δεν παρατηρήθηκε επίδραση στα αντισώματα IgE (Larsen and Nielsen, 2008) που προκαλούν αλλεργικές επιδράσεις του DEHP (Larsen et al., 2007) και στους βασικούς μεταβολίτες του MEHP (Hansen et al., 2007). Η χρόνια φλεγμονή χαμηλού βαθμού μαζί με την ανοσοαπόκριση συμβάλλει σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Costantini et al., 2018) και ρυθμιστικές μοριακές οδοί σηματοδότησης του φθαλικού οξέος που αποτελούν το υπόβαθρο της φλεγμονής και του κινδύνου φλεγμονής μπορεί να παίζουν βασικό ρόλο στην προώθηση της φλεγμονώδους δραστηριότητας μέσω πολλαπλών μηχανισμών.

2.3. Επιπτώσεις των φθαλικών εστέρων στο περιβάλλον

Οι φθαλικοί εστέρες μολύνουν το περιβάλλον μέσω πολλών διαδρόμων, από απώλειες κατά την διαδικασία κατασκευής, την έκπλυση ή την εξάτμιση από τα τελικά προϊόντα. Από την στιγμή που απελευθερώνονται στο περιβάλλον απορροφούνται από σωματίδια και μεταφέρονται μέσω της ατμόσφαιρας, της γεωργικής απορροής και της έκπλυσης χώρων υγειονομικής ταφής απορριμμάτων.

Ο χρόνος ζωής των φθαλικών εστέρων είναι μεταξύ 3 ετών για τον φθαλικό διμεθυλεστέρα έως 2000 ετών για τον φθαλικό δι-2-αιθυλεξυλεστέρα. Αποτέλεσμα είναι σημαντικές ποσότητες με την πάροδο του χρόνου να βρίσκονται στον αέρα, το νερό, το έδαφος, τα ιζήματα και στους βιότοπους με αποτέλεσμα να εκτίθεται σε μόλυνση ο ανθρώπινος και ζωικός οργανισμός.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ

ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΣΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

Ο όρος μετανάστευση έχει να κάνει με την μεταφορά μέρους ή συνόλου συστατικών που περιέχονται στα δοχεία αποθήκευσης στο αποθηκευμένο προϊόν.

Οι Chady και Crosby (1977) ερεύνησαν την πιθανή μετανάστευση του βινυλοχλωριδίου από το PVC στο ελαιόλαδο ταυτόχρονα ο Castle (1991) προσδιόρισε την ολική μετανάστευση του και βρέθηκε ίση με 390 mg/kg ελαιολάδου. Αυτό αποδεικνύει ότι υπάρχει μετανάστευση πλαστικοποιητών στο ελαιόλαδο.

Τα παρακάτω συστατικά μπορούν να μεταναστεύσουν από τα δοχεία συσκευασίας στο ελαιόλαδο:

- τα μονομερή
 - τα олиγομερή
 - τα υπολείμματα καταλυτών
 - οι πλαστικοποιητές
 - τα αντιοξειδωτικά
 - τα βελτιωτικά της πλαστικής ύλη
 - οι χρωστικές
 - τα υπολείμματα διαλυτών
 - τα προϊόντα αποικοδόμηση
- (Κυριτσάκης, 2007)

3.1. Παράγοντες που επηρεάζουν την μετανάστευση των πλαστικοποιητών

Οι βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν την μετανάστευση των πλαστικοποιητών είναι οι εξής:

- Το μοριακό βάρος της ουσίας που μεταναστεύει: διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες.

1. Ενώσεις με $MB < 250-300$ σε αυτές ανήκουν τα περισσότερα μονομερή και μερικά πρόσθετα που είναι πτητικές ενώσεις, διαχέονται εύκολα στο πολυμερές και μπορούν να αποβληθούν αυτόματα από την επιφάνεια του περιέκτη (μολύνονται ακόμα και ξηρά τρόφιμα)

2. Ενώσεις με $MB=200-1200$ σε αυτές ανήκουν ορισμένα μονομερή, συνήθη πρόσθετα και μερικά προϊόντα αποικοδόμησης. Το ποσοστό της μετανάστευσης εξαρτάται από το τρόφιμο. Οι λιπόφιλες ενώσεις αυτής της κατηγορίας μεταναστεύουν σε λιπαρά ή υδατικά τρόφιμα.

3. Ενώσεις με $MB>1200$ σε αυτές ανήκουν τα олиγομερή, τα πρόσθετα (πλαστικοποιητές) και τα προϊόντα αντιδράσεων των πρόσθετων. Τα τρόφιμα δεν επιμολύνονται σε μεγάλο βαθμό από αυτές.

- Η δομή του μορίου της ουσίας που μεταναστεύει: τα ευθύγραμμα μόρια διαχέονται ταχύτερα στα πολυμερή σε σχέση με τα σφαιρικά που έχουν ίδιο όγκο. Οι διακλαδιζόμενες αλυσίδες στα πρόσθετα μειώνει τον ρυθμό διάχυσης.
- Η θερμοκρασία: η αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνει το ρυθμό μετανάστευσης.
- Η φύση του τροφίμου: η μετανάστευση αυξάνεται σημαντικά όταν το τρόφιμο έχει την ιδιότητα να διαλυτοποιεί στο πολυμερές την ουσία που μεταναστεύει. Τα υγρά τρόφιμα έχουν μελετηθεί περισσότερο για τη μετανάστευση ουσιών από και προς τον περιεκτικά.
- Η δομή του πλαστικού: Όσο πιο χαλαρή είναι η δομή του πλαστικού τόσο πιο εύκολα γίνεται η μετανάστευση
- Ο χρόνος επαφής: Η ποσότητα μιας ένωσης που μεταναστεύει είναι ανάλογη με την τετραγωνική ρίζα του χρόνου (Αρβανιτογιάννης και Μπόσνεα, 2001).

3.2. Φθαλικοί εστέρες σε έλαια και λίπη

Το 2005 στην Ελβετία έγινε μια έρευνα για την ποσότητα των φθαλικών εστέρων που υπάρχουν στα λιπαρά εμφιαλωμένα προϊόντα και προέκυψε πως οι ποσότητες είναι μεγάλες (Fankhauser-Noti and Grob, 2006). Οι φθαλικοί εστέρες δεν μεταναστεύουν στο προϊόν μόνο από πλαστικές συσκευασίες αλλά ακόμα και από γυάλινες διότι οι πλαστικοποιητές DEHP, DINP, DIDP και DEHA υπάρχουν και κάτω από την σφράγιση στα πώματα των γυάλινων βάζων. Έγιναν έρευνες σε ελιές στον οπωρώνα και σε ελιές σε ελαιοτριβεία και ανακαλύφθηκε πως οι ελιές στα ελαιοτριβεία είχαν υψηλότερα επίπεδα φθαλικών εστέρων αυτό αποδεικνύει πως η μόλυνση μπορεί να πραγματοποιηθεί κατά την συγκομιδή αλλά και κατά την

μεταφορά των ελιών. Επίσης η μόλυνση του λαδιού και των προϊόντων όπως η πάστα ελιάς μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω των σωλήνων και άλλων μηχανημάτων που έρχονται σε επαφή κατά την επεξεργασία τους. Παρόλα αυτά τα ποσοστά που ανιχνεύθηκαν ήταν μέσα στα όρια των κανονισμών. Έχει παρατηρηθεί πως τα φθαλικά οξέα μπορεί να μειωθούν κατά την επεξεργασία (εκχύλιση, εξουδετέρωση, αποχρωματισμό και απόσπηση). Στο παρθένο ελαιόλαδο η ποσότητα των φθαλικών εστέρων είναι μεγαλύτερη λόγω του ότι δέχεται λιγότερη επεξεργασία (Nami et al., 2011). Παρόλα αυτά στην Τουρκική αγορά τα μεγαλύτερα ποσοστά σε φθαλικούς εστέρες βρέθηκαν σε ηλιέλαιο, ενώ τα χαμηλότερα σε παρθένο ελαιόλαδο και φουντουκέλαιο (Sungur et al., 2015), από την άλλη πλευρά στην αγορά της Κίνας σχεδόν όλα τα είδη των ελαίων ήταν υψηλά σε ποσοστά φθαλικών εστέρων και πιο μολυσμένα ήταν τα σιτέλαια και τα λιγότερο μολυσμένα ήταν τα αραβοσιτέλαια (Luo et al., 2020).

3.3. Αναλύσεις παρουσίας φθαλικών εστέρων στο ελαιόλαδο

Η συμβολή των ελαίων στην έκθεση σε φθαλικούς εστέρες είναι πολύ σημαντική διότι τα έλαια μπορούν να καταναλωθούν και ωμά αλλά και μέσα σε καρυκεύματα ή ως μέσα μαγειρέματος. Το ελαιόλαδο παίζει σημαντικό ρόλο στη διατροφή λόγω του ότι έχει μεγάλη θρεπτική αξία και γι' αυτό το λόγο από πολλές χώρες έχει θεωρηθεί προτεραιότητα για τον εντοπισμό των πλαστικοποιητών.

Υπάρχουν διάφοροι μέθοδοι εκχύλισης και καθαρισμού για αναλύσεις φθαλικών εστέρων στα τρόφιμα όπως η συμβατική εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE), η μαγνητική (MSPE), η μοριακά αποτυπωμένη (MISPE), η διασπορά υγρού- υγρού μικρο- εξαγωγή (DLLME) και η μικρο- εκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) οι οποίες ακολουθούνται από υγρό ή αέριο χρωματογραφικό διαχωρισμό και την ανίχνευση με φασματομετρία μάζας.

Σε δείγματα που συλλέχθηκαν στην ευρωπαϊκή αγορά έγινε ανάλυση με την μέθοδο ChromatoProde και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με την παραδοσιακή εκχύλιση υγρού ακολουθούμενη από προηγούμενες αναλύσεις συγκέντρωσης. Με την μέθοδο ChromatoProde βρέθηκαν παρόμοια αποτελέσματα με όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης. Τα δείγματα που συλλέχθηκαν έδειξαν τα DEHP και DINP με μέση συγκέντρωση 1,31 και 1,52 mg kg⁻¹ και την μεγαλύτερη συγκέντρωση 7,52 και 6,29

mg kg⁻¹. Τα 4 από τα 16 δείγματα έδειξαν υψηλότερη συγκέντρωση σε DEHP με βάσει τον κανονισμό και τα επιτρεπτά όρια σε τρόφιμα. Στο ένα δείγμα που ήταν πυρηνέλαιο η πηγή μόλυνσης ήταν ο διαλύτης που χρησιμοποιείται κατά την εκχύλιση ενώ τα άλλα δείγματα ήταν εξαιρετικά παρθένα και παρθένα ελαιόλαδα στα οποία δεν εντοπίστηκε η πηγή μόλυνσης.

Επειδή η συγκέντρωση των φθαλικών εστέρων είναι χαμηλή χρειάζονται μέθοδοι με χαμηλό όριο ανίχνευσης επίσης ο υψηλός λιπόφιλος χαρακτήρας και οι παρεμβολές της μήτρας επηρεάζουν την ικανότητα εκχύλισης και επομένως την ανάκτηση και την ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Κατά τη διάρκεια του εργαστηριακού ελέγχου απαιτούνται συγκεκριμένα μέτρα ελέγχου του περιβάλλοντος για την αποφυγή μόλυνσης διότι η παρουσία των φθαλικών εστέρων είναι παντού (Geoffrey Campbell- Platt).

3.4. Αποφυγή μετανάστευσης πλαστικοποιητών στο ελαιόλαδο

Για την αποφυγή μετανάστευσης πλαστικοποιητών στο ελαιόλαδο θα πρέπει:

- οι εύκαμπτοι πλαστικοί σωλήνες μεταφοράς ελαιολάδου σε κάθε τμήμα του εξοπλισμού και οι πλαστικοί περιέκτες που χρησιμοποιούνται στο ελαιοτριβείο, στην μετακίνηση αλλά και στην αποθήκευση του ελαιολάδου να μην περιέχουν στην σύνθεσή τους πλαστικοποιητές και να συνοδεύονται από το σχετικό «πιστοποιητικό καταλληλότητας».
- κατά την συγκομιδή να χρησιμοποιούνται δίχτυα συλλογής και εργαλεία ελαιοραβδιστικών που να επιτρέπονται με βάση τη νομοθεσία (καν. ΕΚ 10/2011). Επίσης να απομακρύνονται από τους ελαιόκαρπους πιθανά τμήματα των ελαιοραβδιστικών με την βοήθεια μιας σίτας μετά το πλυντήριο.

(Σύνδεσμος Ελληνικών Βιομηχανιών Τυποποίησης Ελαιολάδου, 2019).

Στη συνέχεια παρουσιάζονται αναλυτικά τρεις μελέτες προκειμένου να αναφερθούν οι σύγχρονες μέθοδοι ανίχνευσης των φθαλικών εστέρων στο ελαιόλαδο και σε βρώσιμα φυτικά έλαια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV

ΜΕΘΟΔΟΣ GC- MS/MS

Στην μελέτη των Cavaliere et al. (2008) αναπτύχθηκε μια μέθοδος αεριοχρωματογραφίας - φασματοφωτομετρίας διαδοχικής μάζας (GC- MS/ MS) για την ανίχνευση φθαλικών εστέρων στο ελαιόλαδο. Ο κύριος σκοπός αυτής της έρευνας είναι να αναπτυχθεί μια απλή και γρήγορη μέθοδος για την ανάλυση των φθαλικών εστέρων στο ελαιόλαδο με GC - MS/ MS μετά από καθαρισμό GPC. Για την ακρίβεια δοκιμάστηκε η ικανότητα της διαδοχικής φασματοφωτομετρίας μάζας (GC - MS/ MS) για την σαφήνεια και την ακριβή ποσοτικοποίηση των φθαλικών εστέρων σε χαμηλά επίπεδα ανίχνευσης σε λιπαρές μήτρες όπως το ελαιόλαδο χωρίς να χρειάζεται εκχύλιση υγρού- υγρού πριν στο GPC (χρωματογραφία πηκτώματος) και για καθαρισμό SPE (όργανο εξαγωγής στερεάς φάσης) μετά το GPC. Η αναφερόμενη μέθοδος διαδοχικής φασματοφωτομετρίας μάζας συγκρίθηκε με τον τρόπο απόκτησης SIM.

Η αναπτυγμένη μέθοδος που χρησιμοποιεί το GC- EI- MS/ MS εφαρμόστηκε στην ανάλυση των εξής 16 δειγμάτων εμπορικού ελαιολάδου: 6 έξτρα παρθένα ελαιόλαδα, 6 ελαιόλαδα αποτελούμενα από εξευγενισμένα ελαιόλαδα και παρθένα ελαιόλαδα και 4 ελαιοπυρηνέλαια. Συγκρίθηκαν οι φθαλικές ενώσεις που υπήρχαν στα δείγματα ανάλογα με την διαδικασία κατασκευής τους. Το κάθε δείγμα αναλύθηκε 3 φορές με την παρακάτω διαδικασία . Στα συγκεκριμένα δείγματα εντοπίστηκαν μόνο τα DBP, BBP και DEHP αυτό φαίνεται και στον παρακάτω (Πίνακα 4.1.).

Για την διεξαγωγή του πειράματος, ζυγίστηκε 1gr ελαιόλαδου σε φιάλη μέτρησης 10 ml. Αφού προστέθηκαν 200 ml εσωτερικού προτύπου διαλύματος στα 25 mg L⁻¹ η φιάλη πληρώθηκε έως τη χαραγή με κινητή φάση GPC και 5 ml αυτού του αραιωμένου δείγματος εγχύθηκαν χειροκίνητα στη στήλη GPC. Στη συνέχεια συλλέχθηκε το έκλουσμα μεταξύ 18 και 27 λεπτών σε φιάλη σε σχήμα αχλαδιού και ο όγκος του κλάσματος μειώθηκε τοποθετώντας το σε περιστροφικό εξατμιστήρα σε χαμηλή πίεση και σε θερμοκρασία κάτω των 50°C. Και στο τέλος το εκχύλισμα αραιώθηκε σε 1ml με κινητή φάση. Τα στάνταρντ πρότυπα πλέγματος προετοιμάστηκαν με την προαγωγή τους με μια κατάλληλη ποσότητα πρότυπου

διαλύματος φθαλικών ενώσεων.

Πίνακας 4.1. Αποτελέσματα μεθόδου GC- MS/ MS σε δείγματα ελαιόλαδων.
(Cavaliere et al., 2008)

	Χημική Ένωση		
	DBP	BBP	DEHP
Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο 1	0,368 ± 0,025	0,366 ± 0,022	1,66 ± 0,069
Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο 2	0,153 ± 0,011	1,75 ± 0,15	0,439 ± 0,031
Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο 3	-	0,085 ± 0,009	0,543 ± 0,011
Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο 4	-	-	0,630 ± 0,005
Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο 5	-	0,451 ± 0,070	0,483 ± 0,064
Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο 6	-	0,999 ± 0,037	1,34 ± 0,02
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο 1	0,295 ± 0,024	1,01 ± 0,05	2,66 ± 0,01
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο 2	0,394 ± 0,107	0,285 ± 0,043	2,17 ± 0,22
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο 3	0,096 ± 0,018	0,029 ± 0,009	0,386 ± 0,074
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο 4	-	0,188 ± 0,039	1,27 ± 0,10
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο 5	-	-	-
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο 6	-	0,401 ± 0,020	2,11 ± 0,08
Ελαιοπυρηνέλαιο 1	0,365 ± 0,030	0,536 ± 0,089	4,70 ± 0,95
Ελαιοπυρηνέλαιο 2	0,490 ± 0,030	0,69 ± 0,068	2,19 ± 0,22
Ελαιοπυρηνέλαιο 3	0,163 ± 0,003	0,171 ± 0,011	1,62 ± 0,11

Όπως παρατηρούμε ανιχνεύθηκε υψηλότερη συγκέντρωση φθαλικών ενώσεων στα πυρηνέλαια και χαμηλότερα επίπεδα στα παρθένα ελαιόλαδα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ V

ΜΕΘΟΔΟΣ GC- FID

Στην μελέτη των Amanzadeh et al. (2016), αναπτύχθηκε μια ισχυρή αναλυτική διαδικασία που καθορίζει τους φθαλικούς εστέρες σε δείγματα νερού και φυτικών ελαίων (στην παρούσα εργασία θα αναφερθούν μόνο οι διαδικασίες ανάλυσης των δειγμάτων ελαιολάδου που αφορά το θέμα της), ένα νανοσύνθετο γραφενίου/ πολυβινυλοχλωριδίου που επικαλύφθηκε σε ένα υπόστρωμα από ανοξείδωτο χάλυβα με μια απλή διαδικασία εμβάπτισης και χρησιμοποιήθηκε ως μια νέα ίνα μικροεξαγωγής στερεάς φάσης (HS- SPME). Οι προετοιμασμένες ίνες SPME έδειξαν υψηλή ικανότητα εκχύλισης για φθαλικούς εστέρες που δίνουν καλή ευαισθησία και ακρίβεια όταν συνοδεύεται από αεριοχρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC- FID). Η στρατηγική βελτιστοποίησης της διαδικασίας εξαγωγής πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της επιφάνειας απόκρισης με βάση ένα κεντρικό σύνθετο σχέδιο. Η αναπτυγμένη μέθοδος εμφάνισε ένα χαμηλό όριο ανίχνευσης ($0,06-0,08 \mu\text{g L}^{-1}$) και καλή γραμμικότητα ($0,2-100 \mu\text{g L}^{-1}$) όπως βλέπουμε και στον παρακάτω (Πίνακα 5.1.) για τον προσδιορισμό των φθαλικών εστέρων υπό τις παρακάτω βελτιστοποιημένες συνθήκες: θερμοκρασία εκχύλισης $70 \pm 1^\circ\text{C}$, χρόνος εκχύλισης 35 λεπτά, συγκέντρωση αλατιού 30% w/v, ρυθμός ανάδευσης 900 rpm, θερμοκρασία εκρόφησης 230°C και χρόνος εκρόφησης 4 λεπτά και η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα από ίνα σε ίνα βρισκόταν στην περιοχή 6,1- 7,8% και 8,9- 10,2% αντίστοιχα. Η μέθοδος SPME έχει σίγουρα πλεονεκτήματα ως εναλλακτική προσέγγιση προετοιμασίας δείγματος για πολλές εφαρμογές σε σχέση με τις παραδοσιακές μεθόδους. Η SPME έχει πολλά οφέλη όπως την ελάχιστη χρήση διαλυτών, την ολοκλήρωση των σταδίων δειγματοληψίας και την προετοιμασία των δειγμάτων, την απλή λειτουργία, το χαμηλό κόστος και την δυνατότητα μιας διαδικτυακής αναλυτικής διαδικασίας. Στην συγκεκριμένη μέθοδο η ιδιότητα του υλικού επικάλυψης είναι το πιο σημαντικό για την βελτίωση της αποτελεσματικότητας εκχύλισης.

Για την εξαγωγή φθαλικών εστέρων από τα δείγματα ελαίου ζυγίστηκαν $1000 \pm 0,001\text{g}$ δείγματος βρώσιμου φυτικού ελαίου και μεταφέρθηκαν ποσοτικά στο φιαλίδιο εκχύλισης, στη συνέχεια αναμίχθηκαν με 1 mL μεθανόλης ως τροποποιητής μήτρας και επώαστηκαν για 30 λεπτά στους 40°C με συνεχόμενη ανάδευση. Η

εκχύλιση των φθαλικών εστέρων πραγματοποιήθηκε σε λειτουργία HS εκθέτοντας την επικαλυμμένη με G/ PVC ίνα για 30 λεπτά. Για την διαδικασία εκρόφησης η ίνα απομακρύνθηκε από το φιαλίδιο και εισήχθη στην είσοδο GC για την θερμική εκρόφηση σε κατάσταση χωρίς διάσπαση.

Οι παράμετροι της μεθόδου HS- SPME- GC- FID ήταν δικαιολογημένες σε σύγκριση με άλλες διαδικασίες που αναφέρονται στη βιβλιογραφία για τον προσδιορισμό των φθαλικών εστέρων, που δείχνει ότι η μέθοδος είναι αξιόπιστη και πρακτική. Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται ότι τα LOD αυτής της μεθόδου είναι συγκρίσιμα με αυτά που ελήφθησαν στις προηγούμενες μελέτες και ακόμα χαμηλότερα από μερικά από αυτά που αναφέρθηκαν στη βιβλιογραφία που χρησιμοποίησαν τις ίδιες μεθόδους ανίχνευσης. Επίσης η καλή γραμμικότητα, οι χαμηλές τιμές RSD% και ο μικρός χρόνος εξαγωγής είναι μερικά από τα επιπλέον πλεονεκτήματα της μεθόδου HS- SPME- GC- FID σε σύγκριση με άλλες.

Πίνακας 5.1. Αποτελέσματα μεθόδου HS- SPME- GC- FID σε σύγκριση με άλλες μεθόδους. (Amanzadeh et al., 2016)

Μέθοδος	LOD	Δείγμα μήτρας	Μέθοδος ανίχνευσης	Σχετική ανάκτηση (%)	% RSD	Εκτ. χρόνος (λεπτά)
DLLME	2-8 ng L ⁻¹	Νερό	GC-MS	68,2-88,9	4,6-6,8	45
LPME	0,43-4,3 μg L ⁻¹	Νερό	GC-FID	84-102	5,2-6,4	30
SPE	13-22 μg L ⁻¹	Γάλα	GC-MS	75,8-107,5	1,8-10,08	100
MSPE	0,2-0,4 μg L ⁻¹	Νερό	GC-FID	85-99	4-12,3	10
SPME	0,06-0,3 mg kg ⁻¹	Λάδι	GC-MSD/ECD	-	14-23	60-70
HS- SPME	0,06-0,08 μg L ⁻¹	Νερό	GC-FID	90-108	6,1-7,8	35
	0,1-0,15 mg kg ⁻¹	Λάδι		87-112	8,1-10,5	

ΚΕΦΑΛΑΙΟ VI

ΜΕΘΟΔΟΣ SPME ΚΑΙ MS- GC- TRIPLE QUADRUPOLE

Στην έρευνα των Arena et al. (2022) χρησιμοποιήθηκε η εφαρμογή μιας μεθόδου μικροεξαγωγής στερεάς φάσης για τον εντοπισμό φθαλικών ενώσεων σε βρώσιμα φυτικά έλαια. Ο στόχος ήταν η ανάπτυξη της μεθόδου SPME, η οποία θα μειώσει την χρήση των δειγμάτων και στην συνέχεια να αναπτυχθεί ο προσδιορισμός MS GC- triple quadrupole (QqQ).

Εκτελέστηκαν και συγκρίθηκαν διαφορετικές διαδικασίες SPME τόσο σε τρόπους εξαγωγής HS όσο και σε DI, όλες πραγματοποιήθηκαν 3 φορές.

HS- SPME (ίνα που εκτίθεται στη φάση ατμού πάνω από το δείγμα): 1 g ελαίου προστέθηκε σε 1 mL μεθανόλης ως τροποποιητή μήτρας σε φιαλίδιο 4 mL και επώαστηκε για 60 λεπτά στους 40°C υπο συνεχόμενη ανάδευση. Η εκχύλιση έγινε σε λειτουργία HS με ίνες PDMS και Carborpack Z/ PDMS για 20 λεπτά. Η εκρόφηση πραγματοποιήθηκε σε κατάσταση χωρίς διαχωρισμό στους 250°C (PDMS) και 350°C (Carborpack Z/ PDMS) για 5 λεπτά.

DI- SPME (άμεση εμβάπτιση): 0,5 g ελαίου εκχυλίστηκαν με 3 mL ACN (δίνη 30 seconds και φυγοκέντρωση) από τα οποία 2,5 mL εκχυλίστηκαν ξανά σε 4 mL n-Hex. Εμβάπτιστηκε η ίνα Carborpack Z/ PDMS σε 1,5 mL n-Hex σε φιαλίδιο 2 mL για 30 λεπτά υπο ανάδευση. Η ίνα PDMS δεν μπορεί να εμβάπτιστεί σε n-Hex οπότε πραγματοποιήθηκε μια νέα σύγκριση με τη βύθιση και των 2 ινών στο ACN. Συνεπώς, η τελική διαδικασία ήταν 0,5 g ελαίου ζυγίστηκαν σε γυάλινο σωλήνα φυγοκέντρωσης των 10 mL και προστέθηκαν 3 mL ACN. Το μείγμα αναδεύτηκε τακτικά σε αναδευτήρα στροβιλισμού για 30 δευτερόλεπτα και έπειτα έγινε φυγοκέντρωση για 10 λεπτά στις 3000 rpm. Συλλέχθηκαν 1,5 mL εκχυλίσματος ACN σε φιαλίδιο των 2 mL και εκχυλίστηκαν με εμβάπτιση της ίνας PDMS για 20 λεπτά στο αναδευόμενο διάλυμα (500 rpm).

Οι συγκρίσεις έγιναν με βάση τις τιμές LOQ (όριο ποσοτικοποίησης) που ελήφθησαν με την συγκεκριμένη διαδικασία, αντί για τις απόλυτες περιοχές. Αυτό έγινε για να εκτιμηθούν η πραγματική απορρόφηση και οι παρεμβατικές επιδράσεις στη γραμμή βάσης λόγω πιθανών συν- εκχυλισμάτων. Τιμές LOQ είναι μόνο για σύγκριση και δεν μπορούν να είναι οι τελικές τιμές LOQ. Χρησιμοποιώντας τις ίνες PDMS δεν ανιχνεύθηκαν τα DCHP, DiNP και DiDP ενώ οι DPP και BBP εμφάνισαν

υψηλότερες τιμές LOQ, επίσης όλες οι άλλες ενώσεις εμφάνισαν τιμές LOQ χαμηλότερες ή συγκρίσιμες με τιμές LOQ (περίπου 0,5 mg kg⁻¹). Με την χρήση των ινών Carborack Z/ PDMS οι DPP, BBP, DCHP, DiNP και DiDP δεν βρέθηκαν αποτελεσματικά ενώ όλοι οι άλλοι φθαλικοί εστέρες εκτός από τον DiBP έδωσαν μεγαλύτερες τιμές LOQ σε σύγκριση με την ίνα PDMS. (Πίνακας 6.1)

Πίνακας 6.1. Σύγκριση μεταξύ των τιμών LOQ χρησιμοποιώντας ίνες PDMS και Carborack Z/ PDMS στις λειτουργίες HS και DI. (Arena et al., 2022)

PAE	HS		DI		
			n- Hex	ACN	
	PDMS	CarZ/ PDMS	CarZ/ PDMS	CarZ/ PDMS	PDMS
DMP	0,187	2.066	0.052	0.816	0.053
DEP	0.575	1.300	0.053	0.261	0.044
DPP	1.673	-	0.207	0.485	0.043
DiBP	0.364	0.229	0.038	0.093	0.019
DBP	0.110	0.167	0.621	0.250	0.018
BBP	1.564	-	1.842	0.550	0.111
DCHP	-	-	2.148	0.990	0.044
DEHP	0.668	1.085	0.336	0.409	0.026
DiNP + DiDP	-	-	-	3.569	0.138

Οι ίνες Carborack Z/ PDMS εμβαπτισμένες στο n- Hex έδωσαν καλύτερη απόδοση από ότι στη λειτουργία HS, όλες οι φθαλικές ενώσεις βρέθηκαν εκτός από τα DiNP και DiDP επίσης οι τιμές LOQ για τα DBP, BBP και DCHP ήταν πάνω από

0,500 mg kg⁻¹. Οι DEHP και DPP έδειξαν τιμές LOQ 0,336 και 0,207 mg kg⁻¹ αντίστοιχα, ενώ οι DMP, DEP και DiBP έδωσαν τιμές LOQ χαμηλότερες από 0,060 mg kg⁻¹.

Στην διαδικασία DI οι χαμηλού μοριακού βάρους φθαλικές ενώσεις (DMP, DEP, DPP και DiBP) εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές LOQ όταν εκχυλίστηκαν από το n- Hex παρά τις χαμηλές αποδόσεις εκχύλισης. Από την άλλη οι DiNP και DiDP δεν έδειξαν αποτελεσματικότητα με την ίνα Carborack Z/ PDMS. Για την αξιολόγηση της ίνας PDMS τροποποιήθηκε λίγο η διαδικασία DI και ξανά εξετάστηκαν και οι 2 ίνες. Χρησιμοποιώντας αυτή την τροποποιημένη διαδικασία οι ίνες Carborack Z/ PDMS έδωσαν υψηλότερες τιμές LOQ για όλους τους φθαλικούς εστέρες σε σχέση με την προηγούμενη διαδικασία. Από την άλλη η ίνα PDMS έδωσε χαμηλότερες τιμές LOQ ≤ 0,053 mg kg⁻¹ για όλους τους φθαλικούς εστέρες εκτός από τον BBP, DiNP και DiDP. Επιπροσθέτως, οι τιμές επαναληψιμότητας ήταν πολύ καλύτερες με την ίνα PDMS σε σχέση με την ίνα Carborack Z/ PDMS. Το συμπέρασμα είναι πως η ίνα PDMS είναι καλύτερη για την βελτιστοποίηση της εκχύλισης φθαλικών ενώσεων (PAE's) από φυτικά έλαια.

Η μέθοδος DI- SPME- GC- QqQ MS εφαρμόστηκε σε διαφορετικά είδη φυτικών ελαίων και η μόλυνση από PAE's που προέκυψε από την διαδικασία παρασκευής δειγμάτων αφαιρέθηκε από την ποσότητα PAE's που υπήρχε ήδη σε κάθε δείγμα και βρέθηκε με την ανάλυση. Στον πίνακα 6.2 υπάρχουν οι ποσότητες των φθαλικών εστέρων που εντοπίστηκαν σε κάθε δείγμα αλλά και πληροφορίες για το υλικό συσκευασίας κάθε δείγματος. Κάθε τιμή έχει προκύψει από τον μέσο όρο δύο επαναλήψεων. Τα έλαια που προέρχονται από την ελιά ήταν πιο μολυσμένα όπως φαίνεται και στον πίνακα από τα σπορέλαια εκτός από το μικτό έλαιο.

Πίνακας 6.2. Ποσότητα φθαλικών εστέρων σε δείγματα ανάλογα με το υλικό συσκευασίας τους. (Arena et al., 2022)

Δείγματα	Υλικά συσκευασίας	PAE's								
		DMP	DEP	DPP	DiBP	DBP	BBP	DCHP	DEHP	DiNP+ DiDP
Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 1	Αλουμίνιο	< LOQ	0.228	< LOQ	0.953	0.127	< LOQ	< LOQ	0.618	5.991
Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο 2	Γυαλί	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0.310	7.207
Ελαιόλαδο	Γυαλί	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0.944	< LOQ	< LOQ	< LOQ	2.341	1.074
Ηλιέλαιο 1	Πλαστικό	0.044	0.071	0.244	< LOQ	< LOQ	0.305	0.140	< LOQ	< LOQ
Ηλιέλαιο 2	Πλαστικό	< LOQ	0.329	0.019	0.589	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0.114	< LOQ
Σογιέλαιο	Πλαστικό	< LOQ	0.626	< LOQ	3.219	0.213	< LOQ	< LOQ	0.444	0.207
Φυστικέλαιο	Πλαστικό	< LOQ	0.320	0.018	1.296	0.052	< LOQ	< LOQ	0.585	< LOQ
Μικτό σπορέλαιο	Πλαστικό	< LOQ	0.888	< LOQ	3.911	0.616	0.099	< LOQ	2.506	0.311

ΚΕΦΑΛΑΙΟ VII

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Που βρίσκονται οι φθαλικοί εστέρες;

Οι φθαλικοί εστέρες κατά κύριο λόγο βρίσκονται στα πλαστικά (βλ. Κεφάλαια 2.1 & 2.2). Επομένως μπορεί η παρουσία τους να είναι σε αρκετά είδη καθημερινής χρήσης όπως πλαστικά αντικείμενα, σε συσκευασίες είτε τροφίμων και ποτών, είτε καλλυντικών και έχουν την ιδιότητα κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες να μεταναστεύουν από την συσκευασία στο αποθηκευμένο προϊόν. Πολλά προϊόντα μπορεί να περιέχουν εξαρχής ποσότητες φθαλικών εστέρων είτε από τα συστατικά τους (στα καλλυντικά και στα αντικείμενα ή υλικά σπιτιού), είτε από τα στάδια επεξεργασίας τους (στα τρόφιμα & ποτά). Επίσης, οι φθαλικοί εστέρες μπορεί να υπάρχουν στον μολυσμένο εσωτερικό αέρα που μπορεί να έχει επιμολυνθεί είτε από αντικείμενα που υπάρχουν στο χώρο και περιέχουν φθαλικούς εστέρες από το περιβάλλον από το οποίο πολλά τρόφιμα μπορεί να έχουν επιμολυνθεί εξαρχής λόγω του μολυσμένου αέρα, εδάφους και νερού. Στα κρέατα παραδείγματος χάρη η επιμόλυνση μπορεί να προέλθει από το ίδιο το ζώο που θα έχει επιμολυνθεί ο οργανισμός του από φθαλικούς εστέρες λόγω του μολυσμένου περιβάλλοντος αλλά και μέσω τον μολυσμένων ζωοτροφών.

Πόσο πραγματικά κίνδυνο αποτελούν οι φθαλικοί εστέρες σε σχέση με τα οφέλη του προϊόντος;

Οι φθαλικοί εστέρες είναι αρκετά επικίνδυνοι για την ανθρώπινη υγεία, η χρόνια έκθεση σε αυτές τις ενώσεις μπορεί να προκαλέσει από λιγότερο σοβαρά προβλήματα όπως αλλεργίες μέχρι και πολύ σοβαρότερα όπως καρκίνο, εκτός από την χρόνια έκθεση παίζει ρόλο και το κάθε είδος φθαλικού εστέρα. Ο κάθε φθαλικός εστέρας χρησιμοποιείται για διαφορετική χρήση και μπορεί να προκαλέσει διαφορετικά προβλήματα υγείας, είτε πιο σοβαρά είτε όχι τόσο (βλ. Κεφάλαιο 2.3). Συγκεκριμένα στα τρόφιμα ένα σημαντικό μέρος επιμόλυνσης προέρχεται από την αποθήκευση του τροφίμου σε κάποια πλαστική συσκευασία και για αρκετό χρονικό διάστημα το τρόφιμο μένει στην συσκευασία του με αποτέλεσμα το τρόφιμο να

εκτίθεται για αρκετό καιρό σε φθαλικούς εστέρες. Το κάθε τρόφιμο έχει συγκεκριμένα οφέλη για την υγεία του ανθρώπου και πολλά είδη όπως τα φυτικά έλαια εκτός από σημαντικά για την διατροφή είναι και σημαντικά για τρόπους μαγειρέματος και συντήρησης άλλων τροφίμων, συνεπώς κανένα τρόφιμο δεν γίνεται να αφαιρεθεί από την ισορροπημένη και σωστή διατροφή κάποιου ατόμου λόγω της πιθανής ύπαρξης φθαλικών εστέρων.

Υπάρχουν τρόποι να αποφύγουμε εντελώς τους φθαλικούς εστέρες;

Λόγω του ότι στις μέρες μας σχεδόν όλα γύρω μας έχουν να κάνουν με το πλαστικό και οι φθαλικοί εστέρες είναι βασική ένωση των πλαστικών είναι λίγο δύσκολο να τους αποφύγουμε εντελώς. Ακόμα και αν δεν χρησιμοποιούμε καθόλου πλαστικά είδη όπως π.χ. να μην αγοράζουμε τρόφιμα που βρίσκονται σε πλαστικές συσκευασίες δεν μπορούμε να είμαστε 100% σίγουροι ότι δεν θα περιέχουν φθαλικούς εστέρες διότι η επιμόλυνση μπορεί να έχει συμβεί είδη είτε από το περιβάλλον λόγω μολυσμένου αέρα, νερού και εδάφους (βλ. Κεφάλαιο 2.4) είτε κατά το στάδιο παρασκευής και επεξεργασίας από διάφορα εξαρτήματα που μπορεί να χρησιμοποιούνται και να περιέχουν φθαλικούς εστέρες. Επίσης όπως αναφέραμε και παραπάνω το κρέας συγκεκριμένα μπορεί να είναι ήδη μολυσμένο από το μολυσμένο ζώο που προέρχεται.

Πρακτικές συμβουλές για τον καταναλωτή

Όπως προαναφέραμε είναι δύσκολο να αποφύγουμε τους φθαλικούς εστέρες εντελώς από την ζωή μας το μόνο που μπορούμε να κάνουμε είναι όσο περνάει από το χέρι του κάθε καταναλωτή να τους περιορίσουμε. Συγκεκριμένα στα τρόφιμα που είναι και το θέμα της εργασίας μπορούμε να το επιτύχουμε με διάφορους τρόπους όπως:

- Να προτιμάμε τρόφιμα και ποτά που είναι αποθηκευμένα σε γυάλινες ή χάρτινες συσκευασίες.
- Να αποθηκεύουμε τα τρόφιμά μας σε γυάλινα σκεύη.
- Όταν θερμαίνουμε κάποιο τρόφιμο στα μικροκύματα να μην χρησιμοποιούμε πλαστικά σκεύη.

- Να προτιμάμε πλαστικά πιο σκληρά ώστε η ποσότητα φθαλικών εστέρων που μεταναστεύει να είναι μικρότερη διότι όσο πιο χαλαρή είναι η δομή του πλαστικού τόσο πιο εύκολη είναι η μετανάστευση του στο προϊόν.
- Να μην επαναχρησιμοποιούμε πλαστικές συσκευασίες μιας χρήσης όπως πχ. μπουκαλάκια νερού.
- Να μην εκθέτουμε τα τρόφιμα που είναι αποθηκευμένα σε πλαστικές συσκευασίες σε υψηλές θερμοκρασίες όπως πχ. το νερό στον ήλιο διότι όσο μεγαλύτερη είναι η θερμοκρασία τόσο ευκολότερη είναι η μετανάστευση των φθαλικών εστέρων.
- Να αγοράζουμε πλαστικά σκεύη που έχουν κατασκευαστεί στην Ε.Ε. διότι βάση της νομοθεσίας υπάρχουν συγκεκριμένα όρια ποσότητας φθαλικών εστέρων που θα πρέπει να περιέχονται και κάποιοι φθαλικοί εστέρες που έχουν βρεθεί ως οι πιο επικίνδυνοι έχουν απαγορευτεί.

Ποια είναι η συνολική αξιολόγηση των μεθόδων ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν;

Έχουν δοκιμαστεί τρεις τρόποι λήψης (EI- MS/MS, CI- MS/MS και EI- SIM). Μια συνολική αξιολόγηση όλων των αναλυτικών παραμέτρων δείχνει ότι η απόκτηση σε λειτουργία EI- MS/MS παρέχει ικανοποιητικά δεδομένα για όλους τους αναλυτές που ενδιαφέρουν. Συγκεκριμένα, η σύγκριση με την πιο κοινή μεθοδολογία SIM έχει αποδείξει την ικανότητα του MS/MS να αυξάνει την ευαισθησία και την επιλεκτικότητα της ανίχνευσης και της ποσοτικοποίησης. Η υψηλή ειδικότητα και η ακρίβεια, οι τιμές LOD και LOQ, καλύτερες από αυτές που έχουν δημοσιευτεί σε άρθρα, που προέκυψαν με την αντιστοίχιση της GPC με την μεθοδολογία MS/MS, επιτρέπουν να αποκλειστεί οποιαδήποτε προκαταρκτική εκχύλιση υγρού- υγρού. Η χρήση προτύπων ακίδων μήτρας έχει αποδειχθεί ότι είναι απαραίτητα για την βελτίωση των δεδομένων βαθμονόμησης και της ακρίβειας. Η απόδοση της μεθόδου ως προς την ακρίβεια ήταν πολύ ικανοποιητική για όλους τους αναλυτές. Η εφαρμογή της παραπάνω μεθόδου σε εμπορικά δείγματα διαφορετικού ελαιόλαδου (εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο, ελαιόλαδο και εξευγενισμένο ελαιόλαδο) αποκάλυψε την παρουσία DBP, BBP και DEHP σε υψηλότερες συγκεντρώσεις σε εξευγενισμένα έλαια και χαμηλότερα επίπεδα σε εξαιρετικά παρθένα έλαια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ VIII

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το συμπέρασμα είναι ότι οι φθαλικοί εστέρες είναι παντού γύρω μας και πιο συγκεκριμένα στα πλαστικά είδη συνεπώς και στη διατροφή μας μέσω των τροφίμων όπως του ελαιόλαδου που είναι και το θέμα της εργασίας. Η επιμόλυνση μπορεί να γίνει μέσω πολλών διαδρομών από την παραγωγή του κάθε τροφίμου μέχρι και την διατήρηση και αποθήκευση του τελικού προϊόντος στο σπίτι κάθε καταναλωτή. Η επιμόλυνση από φθαλικούς εστέρες μπορεί να προκαλέσει διαφόρων ειδών προβλήματα υγείας είτε πιο σοβαρά είτε λιγότερο σοβαρά. Μπορεί να συμβεί μέσω πολλών διαδρομών όπως την κατάποση, την εισπνοή, την επαφή με το δέρμα, την κατανάλωση μητρικού γάλακτος, από διάφορα αντικείμενα που περιέχουν φθαλικούς εστέρες και βρίσκονται είτε στον εσωτερικό χώρο είτε όχι και από τον μολυσμένο εσωτερικό αέρα. Επίσης σημαντικό είναι να τονίσουμε ότι οι φθαλικοί εστέρες δεν επιμολύνουν μόνο την υγεία αλλά και το περιβάλλον, με την πάροδο του χρόνου σημαντικές ποσότητες βρίσκονται στο έδαφος, το νερό, τον αέρα, τα ιζήματα και τους βιότοπους με αποτέλεσμα να μολύνουν και τους ζωικούς οργανισμούς και σε συνέχεια τον άνθρωπο και τα τρόφιμα διότι το περιβάλλον με τον άνθρωπο και την διατροφή είναι αλληλένδετα. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την μετανάστευση των φθαλικών εστέρων στα τρόφιμα έχει να κάνει με το μοριακό τους βάρος όσο μεγαλύτερο είναι τόσο λιγότερο μολύνονται τα τρόφιμα, με την θερμοκρασία, όσο υψηλότερη είναι τόσο αυξάνεται ο ρυθμός μετανάστευσης, με την φύση του τροφίμου, η μετανάστευση αυξάνει όταν το τρόφιμο έχει την ιδιότητα να διαλυτοποιεί στο πολυμερές την ουσία που μεταναστεύει, με την δομή του πλαστικού, όσο πιο χαλαρή είναι τόσο πιο εύκολα γίνεται η μετανάστευση και με τον χρόνο επαφής, η ποσότητα μια ένωσης που μεταναστεύει είναι ανάλογη με την τετραγωνική ρίζα του χρόνου. Εάν ο καταναλωτής ακολουθεί κάποιες από την συμβουλές που αναφέρθηκαν στο Κεφάλαιο 7 μπορεί σε κάποιο ποσοστό να ελαττώσει την έκθεση του οργανισμού του σε φθαλικούς εστέρες.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Absalan, F., Saremy, S., Mansori, E., Moghadam, M.T., Moghadam, A.R.E. and Ghanavati, R., 2017. Effects of mono-(2-ethylhexyl) phthalate and Di-(2-ethylhexyl) phthalate administrations on oocyte meiotic maturation, apoptosis and gene quantification in mouse model. *Cell Journal (Yakhteh)*, 18(4), p.503.
- Agarwal, A., Gupta, S. and Sharma, R.K., 2005. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive biology and endocrinology*, 3, pp.1-21.
- Amanzadeh, H., Yamini, Y., Moradi, M. and Asl, Y.A., 2016. Determination of phthalate esters in drinking water and edible vegetable oil samples by headspace solid phase microextraction using graphene/polyvinylchloride nanocomposite coated fiber coupled to gas chromatography-flame ionization detector. *Journal of Chromatography A*, 1465, pp.38-46.
- Arena, A., Zoccali, M., Mondello, L. and Tranchida, P.Q., 2022. Direct analysis of phthalate esters in vegetable oils by means of comprehensive two-dimensional gas chromatography combined with triple quadrupole mass spectrometry. *Food Chemistry*, 396, p.133721.
- Bi, X., Pan, X., Yuan, S. and Wang, Q., 2013. Plasticizer contamination in edible vegetable oil in a US retail market. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(39), pp.9502-9509.
- Boskou, D., 2006. *Olive oil: chemistry and technology*. AOCS Publishing.
- Botelho, G.G., Golin, M., Bufalo, A.C., Morais, R.N., Dalsenter, P.R. and Martino-Andrade, A.J., 2009. Reproductive effects of di (2-ethylhexyl) phthalate in immature male rats and its relation to cholesterol, testosterone, and thyroxin levels. *Archives of Environmental Contamination and toxicology*, 57, pp.777-784.
- Butala, J.H., David, R.M., Gans, G., McKee, R.H., Guo, T.L., Peachee, V.L. and White Jr, K.L., 2004. Phthalate treatment does not influence levels of IgE or Th2 cytokines in B6C3F1 mice. *Toxicology*, 201(1-3), pp.77-85.

- Caporossi, L., Alteri, A., Campo, G., Paci, E., Tranfo, G., Capanna, S., Papaleo, E., Pigini, D., Viganò, P. and Papaleo, B., 2020. Cross sectional study on exposure to BPA and phthalates and semen parameters in men attending a fertility center. *International journal of environmental research and public health*, 17(2), p.489.
- Cavaliere, B., Macchione, B., Sindona, G. and Tagarelli, A., 2008. Tandem mass spectrometry in food safety assessment: the determination of phthalates in olive oil. *Journal of Chromatography A*, 1205(1-2), pp.137-143.
- Costantini, E., D'Angelo, C. and Reale, M., 2018. The role of immunosenescence in neurodegenerative diseases. *Mediators of Inflammation*, 2018.
- Den Hond, E., Tournaye, H., De Sutter, P., Ombelet, W., Baeyens, W., Covaci, A., Cox, B., Nawrot, T.S., Van Larebeke, N. and D'Hooghe, T., 2015. Human exposure to endocrine disrupting chemicals and fertility: A case-control study in male subfertility patients. *Environment international*, 84, pp.154-160.
- Evans, R.M., Barish, G.D. and Wang, Y.X., 2004. PPARs and the complex journey to obesity. *Nature medicine*, 10(4), pp.355-361.
- Fankhauser-Noti, A. and Grob, K., 2006. Migration of plasticizers from PVC gaskets of lids for glass jars into oily foods: amount of gasket material in food contact, proportion of plasticizer migrating into food and compliance testing by simulation. *Trends in Food Science & Technology*, 17(3), pp.105-112.
- Fiore, M., Oliveri Conti, G., Caltabiano, R., Buffone, A., Zuccarello, P., Cormaci, L., Cannizzaro, M.A. and Ferrante, M., 2019. Role of emerging environmental risk factors in thyroid cancer: a brief review. *International journal of environmental research and public health*, 16(7), p.1185.
- Frederiksen, H., Sørensen, K., Mouritsen, A., Aksglaede, L., Hagen, C.P., Petersen, J.H., Skakkebaek, N.E., Andersson, A.M. and Juul, A., 2012. High urinary phthalate concentration associated with delayed pubarche in girls. *International journal of andrology*, 35(3), pp.216-226.
- Ghisari, M. and Bonefeld-Jorgensen, E.C., 2009. Effects of plasticizers and their mixtures on estrogen receptor and thyroid hormone functions. *Toxicology letters*, 189(1), pp.67-77.

Glue, C., Platzer, M.H., Larsen, S.T., Nielsen, G.D., Skov, P.S. and Poulsen, L.K., 2005. Phthalates potentiate the response of allergic effector cells. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 96(2), pp.140-142.

Greene, A.D., Sroga, J.M., Thomas, M.A. and Burns, K.A., 2017. Phthalates may alter macrophage signaling to promote a permissive environment for the initiation of endometriosis. *Fertility and Sterility*, 108(3), pp.e326-e327.

Grun, F. and Blumberg, B., 2009. Minireview: the case for obesogens. *Molecular Endocrinology*, 23(8), pp.1127-1134.

Hansen, J.S., Larsen, S.T., Poulsen, L.K. and Nielsen, G.D., 2007. Adjuvant effects of inhaled mono-2-ethylhexyl phthalate in BALB/cJ mice. *Toxicology*, 232(1-2), pp.79-88.

Hauser, R., Gaskins, A.J., Souter, I., Smith, K.W., Dodge, L.E., Ehrlich, S., Meeker, J.D., Calafat, A.M., Williams, P.L. and EARTH Study Team, 2016. Urinary phthalate metabolite concentrations and reproductive outcomes among women undergoing in vitro fertilization: results from the EARTH study. *Environmental health perspectives*, 124(6), pp.831-839.

Jaakkola, J.J. and Knight, T.L., 2008. The role of exposure to phthalates from polyvinyl chloride products in the development of asthma and allergies: a systematic review and meta-analysis. *Environmental health perspectives*, 116(7), pp.845-853.

Johns, L.E., Ferguson, K.K., Soldin, O.P., Cantonwine, D.E., Rivera-González, L.O., Del Toro, L.V.A., Calafat, A.M., Ye, X., Alshawabkeh, A.N., Cordero, J.F. and Meeker, J.D., 2015. Urinary phthalate metabolites in relation to maternal serum thyroid and sex hormone levels during pregnancy: a longitudinal analysis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13(1), pp.1-12.

Kimber, I. and Dearman, R.J., 2010. An assessment of the ability of phthalates to influence immune and allergic responses. *Toxicology*, 271(3), pp.73-82.

Kıralan, S.S., Toptancı, İ., Öncül Abacıgil, T. and Ramadan, M.F., 2020. Phthalates levels in olive oils and olive pomace oils marketed in Turkey. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 37(8), pp.1332-1338.

- Larsen, S.T., Hansen, J.S., Hansen, E.W., Clausen, P.A. and Nielsen, G.D., 2007. Airway inflammation and adjuvant effect after repeated airborne exposures to di-(2-ethylhexyl) phthalate and ovalbumin in BALB/c mice. *Toxicology*, 235(1-2), pp.119-129.
- Larsen, S.T., Hansen, J.S., Thygesen, P., Begtrup, M., Poulsen, O.M. and Nielsen, G.D., 2001. Adjuvant and immuno-suppressive effect of six monophthalates in a subcutaneous injection model with BALB/c mice. *Toxicology*, 169(1), pp.37-51.
- Larsen, S.T. and Nielsen, G.D., 2008. Structure-activity relationship of immunostimulatory effects of phthalates. *BMC immunology*, 9(1), pp.1-6.
- Latini, G., De Felice, C., Presta, G., Del Vecchio, A., Paris, I., Ruggieri, F. and Mazzeo, P., 2003. In utero exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate and duration of human pregnancy. *Environmental health perspectives*, 111(14), pp.1783-1785.
- Lee, M.H., Park, J., Chung, S.W., Kang, B.Y., Kim, S.H. and Kim, T.S., 2004. Enhancement of interleukin-4 production in activated CD4+ T cells by diphthalate plasticizers via increased NF-AT binding activity. *International archives of allergy and immunology*, 134(3), pp.213-222.
- Li, N., Papandonatos, G.D., Calafat, A.M., Yolton, K., Lanphear, B.P., Chen, A. and Braun, J.M., 2019. Identifying periods of susceptibility to the impact of phthalates on children's cognitive abilities. *Environmental research*, 172, pp.604-614.
- Lin, H., Yuan, K., Li, L., Liu, S., Li, S., Hu, G., Lian, Q.Q. and Ge, R.S., 2015. In utero exposure to diethylhexyl phthalate affects rat brain development: a behavioral and genomic approach. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(11), pp.13696-13710.
- Lind, P.M., Zethelius, B. and Lind, L., 2012. Circulating levels of phthalate metabolites are associated with prevalent diabetes in the elderly. *Diabetes care*, 35(7), pp.1519-1524.
- Long, M., Ghisari, M., Kjeldsen, L., Wielsøe, M., Nørgaard-Pedersen, B., Mortensen, E.L., Abdallah, M.W. and Bonefeld-Jørgensen, E.C., 2019. Autism spectrum disorders, endocrine disrupting compounds, and heavy metals in amniotic fluid: a case-control study. *Molecular autism*, 10, pp.1-19.

- Luo, Q., Liu, Z.H., Yin, H., Dang, Z., Wu, P.X., Zhu, N.W., Lin, Z. and Liu, Y., 2020. Global review of phthalates in edible oil: An emerging and nonnegligible exposure source to human. *Science of the Total Environment*, 704, p.135369.
- Main, K.M., Mortensen, G.K., Kaleva, M.M., Boisen, K.A., Damgaard, I.N., Chellakooty, M., Schmidt, I.M., Suomi, A.M., Virtanen, H.E., Petersen, J.H. and Andersson, A.M., 2006. Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in infants three months of age. *Environmental health perspectives*, 114(2), pp.270-276.
- Maradonna, F. and Carnevali, O., 2018. Lipid metabolism alteration by endocrine disruptors in animal models: an overview. *Frontiers in Endocrinology*, 9, p.654.
- Meehan, T., Schlatt, S., O'Bryan, M.K., de Kretser, D.M. and Loveland, K.L., 2000. Regulation of germ cell and Sertoli cell development by activin, follistatin, and FSH. *Developmental biology*, 220(2), pp.225-237.
- Miao, Y., Wang, R., Lu, C., Zhao, J. and Deng, Q., 2017. Lifetime cancer risk assessment for inhalation exposure to di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). *Environmental Science and Pollution Research*, 24, pp.312-320.
- Mínguez-Alarcón, L., Williams, P.L., Chiu, Y.H., Gaskins, A.J., Nassan, F.L., Dadd, R., Petrozza, J., Hauser, R., Chavarro, J.E. and Earth Study Team, 2018. Secular trends in semen parameters among men attending a fertility center between 2000 and 2017: identifying potential predictors. *Environment international*, 121, pp.1297-1303.
- Mose, T., Mortensen, G.K., Hedegaard, M. and Knudsen, L.E., 2007. Phthalate monoesters in perfusate from a dual placenta perfusion system, the placenta tissue and umbilical cord blood. *Reproductive Toxicology*, 23(1), pp.83-91.
- Nanni, N., Fiselier, K., Grob, K., Di Pasquale, M., Fabrizi, L., Aureli, P. and Coni, E., 2011. Contamination of vegetable oils marketed in Italy by phthalic acid esters. *Food Control*, 22(2), pp.209-214.
- Nriagu, J.O., 2019. *Encyclopedia of environmental health*. Elsevier.
- Oh, M.S., Lee, S.H., Moon, M.H., Lee, D.S. and Park, H.M., 2014. Simultaneous analysis of phthalates, adipate and polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils

using isotope dilution-gas chromatography–mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 7(3), pp.168-175.

Polanska, K., Ligocka, D., Sobala, W. and Hanke, W., 2014. Phthalate exposure and child development: the Polish Mother and Child Cohort Study. *Early human development*, 90(9), pp.477-485.

Preedy, V.R. and Watson, R.R. eds., 2020. *Olives and olive oil in health and disease prevention*. Academic press.

Radke, E.G., Braun, J.M., Nachman, R.M. and Cooper, G.S., 2020. Phthalate exposure and neurodevelopment: A systematic review and meta-analysis of human epidemiological evidence. *Environment international*, 137, p.105408.

Sharpe, R.M. and Skakkebaek, N.E., 2008. Testicular dysgenesis syndrome: mechanistic insights and potential new downstream effects. *Fertility and sterility*, 89(2), pp.e33-e38.

Silva, M.J., Reidy, J.A., Herbert, A.R., Preau, J.L., Needham, L.L. and Calafat, A.M., 2004. Detection of phthalate metabolites in human amniotic fluid. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 72, pp.1226-1231.

Stojanoska, M.M., Milosevic, N., Milic, N. and Abenavoli, L., 2017. The influence of phthalates and bisphenol A on the obesity development and glucose metabolism disorders. *Endocrine*, 55, pp.666-681.

Sungur, S., Okur, R., Turgut, F.H., Ustun, I. and Gokce, C., 2015. Migrated phthalate levels into edible oils. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 8(3), pp.190-194.

Upton, K., Sathyanarayana, S., De Roos, A.J., Thompson, M.L., Scholes, D., Dills, R. and Holt, V.L., 2013. Phthalates and risk of endometriosis. *Environmental research*, 126, pp.91-97.

Wang, Y.X., Zhou, B., Chen, Y.J., Liu, C., Huang, L.L., Liao, J.Q., Hu, X.J., Lu, W.Q., Zeng, Q. and Pan, A., 2018. Thyroid function, phthalate exposure and semen quality: Exploring associations and mediation effects in reproductive-aged men. *Environment international*, 116, pp.278-285.

- Willems, A., De Gendt, K., Allemeersch, J., Smith, L.B., Welsh, M., Swinnen, J.V. and Verhoeven, G., 2010. Early effects of Sertoli cell-selective androgen receptor ablation on testicular gene expression. *International journal of andrology*, 33(3), pp.507-517.
- Zhu, M., Huang, C., Ma, X., Wu, R., Zhu, W., Li, X., Liang, Z., Deng, F., Wu, J., Geng, S. and Xie, C., 2018. Phthalates promote prostate cancer cell proliferation through activation of ERK5 and p38. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 63, pp.29-33.
- Zuccarello, P., Conti, G.O., Cavallaro, F., Copat, C., Cristaldi, A., Fiore, M. and Ferrante, M., 2018. Implication of dietary phthalates in breast cancer. A systematic review. *Food and Chemical Toxicology*, 118, pp.667-674.
- Αρβανιτογιάννης, Ι. και Μποσνέα, Α., 2001. Στοιχεία τεχνολογίας, μεταποίησης και συσκευασίας τροφίμων. *Εκδόσεις University Studio Press, Θεσ/νίκη*.
- Βασιλακάκης, Μ., 2016. Γενική και ειδική δενδροκομία. *Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσ/νίκη*, σελ, 894.
- Κυριτσάκης, Α., 2007. Ελαιόλαδο Συμβατικό και Βιολογικό Βρώσιμη, Ελιά– Πάστα Ελιάς. *Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα*.

ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΕΣ ΠΗΓΕΣ

- OSHA, <https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/organic/org104/org104.html>
- Βαλαβανίδης Θ., http://195.134.76.37/chemicals/chem_phthalates.htm
- Φουντουλάκης Μ., 2005, <https://nemertes.lis.upatras.gr/jspui/bitstream/10889/238/1/249.pdf>