ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΔΙΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ PCBs

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΓΕΩΡΓΙΑ ΦΡΥΓΑΝΑ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ

2020

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΘΕΜΑ: ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΔΙΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ PCBs

ΓΕΩΡΓΙΑ ΦΡΥΓΑΝΑ

Α.Μ.: 2015121

ΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΕΣ ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ

ΙΩΑΝΝΗΣ ΚΑΠΟΛΟΣ

ΣΩΤΗΡΙΟΣ Σ. ΒΑΜΒΑΚΑΣ

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Μέσα από αυτή την μελέτη θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στη διεξαγωγή της. Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές του ιδρύματος για την συμβολή τους στην όποια επιστημονική μου κατάρτιση και την ενίσχυση της αγάπης μου για την επιστήμη. Πιο συγκεκριμένα, η πραγματοποίηση της συγκεκριμένης μελέτης δε θα ήταν δυνατή χωρίς τη καθοδήγηση και επιτήρηση των επιβλεπόντων καθηγητών κύριο Καπολό Ιωάννη και κύριο Βαμβακά Σωτήριο, οι οποίοι με τις συμβουλές που μου προσέφεραν με βοήθησαν να προσεγγίσω καλύτερα το θέμα. Στη συνέχεια, οφείλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τα κοντινά μου πρόσωπα για την ηθική υποστήριξη και διαρκή ενθάρρυνση που μου παρείχαν καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία με θέμα «Σύγκριση μεθόδων ανίχνευσης διοξινών και PCBs» εστιάζει αρχικά στη μελέτη και κατανόηση των χαρακτηριστικών αυτών των τοξικών ενώσεων. Οι διοξίνες και τα PCBs είναι πολυχλωριωμένες οργανικές ενώσεις που απελευθερώνονται στο περιβάλλον κυρίως ως προϊόντα βιομηχανικών διεργασιών, εισέρχονται στη τροφική αλυσίδα και προκαλούν δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία των ζωντανών οργανισμών. Έπειτα γίνεται αναφορά στο κύκλο ζωής τους, στην αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη και τη νομοθεσία, ταυτόχρονα προτείνονται τρόποι αντιμετώπισης. Επιπρόσθετα, αναλύεται η διαδικασία ανίχνευσης, από την εκχύλιση του δείγματος, τον καθαρισμό και τέλος την ενόργανη χημική ανάλυση των ενώσεων αυτών σε εργαστηριακό επίπεδο. Ωστόσο η δυσκολία της ανίχνευσης και ανάλυσης των ενώσεων αυτών οδήγησε τους ερευνητές στην αναζήτηση απλούστερων τεχνικών όπως οι βιολογικοί προσδιορισμοί που αναλύονται επίσης. Τέλος, γίνεται συζήτηση και σύγκριση των μεθόδων ανίχνευσης, καθώς η κάθε μέθοδος φαίνεται να έχει τα προτερήματα και τα μειονεκτήματα της.

Γενικός σκοπός της μελέτης είναι η πληροφόρηση γι' αυτούς τους τοξικούς περιβαλλοντολογικούς ρύπους αλλά και η ανάπτυξη και αξιολόγηση των διαθέσιμων μεθόδων ανίχνευσης διοξινών και PCBs.

Λέξεις κλειδιά: διοξίνες, πολυχλωριωμένα διφαινύλια, φουράνια, εκχύλιση, καθαρισμός, ενόργανη ανάλυση, ανοσοχημικοί προσδιορισμοί

ABSTRACT

The present study, entitled “Comparison of dioxin and PCBs detection methods”, initially focuses on understanding the characteristics of these toxic compounds. Dioxins and PCBs are polychlorinated organic compounds, which are released into the environment mainly as products of industrial processes. They enter the food chain and cause negative health effects to living organisms. Their cycle of life, daily intake, various regulations and measures and ways of prevention are also suggested. Moreover, the detection procedure is also mentioned, from sample extraction to clean-up and finally instrumental chemical analysis of the studied substances in the lab. The difficulty in detecting these compounds had led the researchers to other simpler detection methods, such as bioassays, which are included as well. Finally a comparison of the methods is made because there seem to be both advantages and disadvantages in each method.

The aim of this project is not only to offer information about these toxic chemical compounds but also to develop and evaluate the present detection methods of dioxins and PCBs.

Key words: dioxins, polychlorinated biphenyls, furans, extraction, cleanup, instrumental analysis, immunoassays

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ 1

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ 4

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ 8

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ 9

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ 9

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΙΟΞΙΝΕΣ ΚΑΙ ΠΟΛΥΧΛΩΡΙΩΜΕΝΑ ΔΙΦΑΙΝΥΛΙΑ 10

1.1 Ανθεκτικοί οργανικοί ρύποι 10

1.2 Δομή 12

1.3 Φυσικές και χημικές ιδιότητες 13

1.4 Μηχανισμός δράσης 16

1.5 Ιστορικό παραγωγής διοξινών 19

1.5.1. Σημαντικά γεγονότα και περιστατικά 19

1.6 Σχηματισμός διοξίνης 23

1.7 Πηγές 26

1.8 Τρόπος μεταφοράς στο περιβάλλον 32

1.9 Έκφραση τοξικότητας των διοξινών 36

1.9.1 Συντελεστής Τοξικής Ισοδυναμίας (TEF) 36

1.9.2 Συντελεστής ισοδύναμου τοξικότητας (TEQ) 38

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΔΙΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΠΟΛΥΧΛΩΡΙΩΜΕΝΩΝ ΔΙΦΑΙΝΥΛΙΩΝ 42

2.1 Μεταφορά στις τροφικές αλυσίδες 42

2.2 Ανθρώπινη έκθεση 45

2.3 Επιπτώσεις της συσσώρευσης διοξινών και πολυχλωριωμένων διφαινυλίων 47

2.3.1 Επιπτώσεις στον άνθρωπο 47

2.3.2 Επιπτώσεις στα ζώα 50

2.4 Κύκλος ζωής μετά την απελευθέρωση στο περιβάλλον 52

2.5 Ανεκτή ημερήσια πρόσληψη TDI 56

2.6 Επίπεδα δράσης 59

2.7 Ευθύνη των υπεύθυνων επιχειρήσεων τροφίμων 60

2.8 Έλεγχος και πρόληψη της έκθεσης 60

2.9 Συνιστώμενα μέτρα 61

2.10Κανονισμοί και συστάσεις σχετικά με τις εκπομπές διοξινών 64

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΔΙΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΠΟΛΥΧΛΩΡΙΩΜΕΝΩΝ ΔΙΦΑΙΝΥΛΙΩΝ 66

3.1 Μέθοδοι προσδιορισμού 66

3.2 Εκχύλιση 68

3.2.1 Σύστημα εκχύλισης Soxhlet για στερεά δείγματα 68

3.2.2 Υγρή-υγρή εκχύλιση για υγρά και ημιστερεά δείγματα 69

3.3. Καθαρισμός από παρεμποδίζουσες ουσίες 71

3.3.1 Χρωματογραφία στήλης πηκτής πυριτίας (Silica gel) 71

3.3.2. Χρωματογραφία στήλης οξειδίου του αργιλίου (Alumina) 71

3.3.3. Χρωματογραφία στήλης πυριτικού μαγνησίου (Florisil) 72

3.3.4. Χρωματογραφία στήλης και εκχύλιση ενεργού άνθρακα (Activated carbon) 72

3.4. Ενόργανη ανάλυση για τον προσδιορισμό m.o PCB, n.o PCB και PCDD/Fs 73

3.5. Ανοσοχημικοί προσδιορισμοί (Immunoassays) 76

3.5.1. Βιοαισθητήρες (Biosensors) 77

3.5.2. ELISA 77

3.5.3 Ραδιοϊσοτοπικοί ανοσοπροσδιορισμοί (RIA) 79

3.6 Βιολογική δοκιμασία (Bioassays) 79

3.7 Βιοδείκτες (Biomarkers) 80

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ 81

4.1 Βασικές απαιτήσεις για την αποδοχή των διαδικασιών ανάλυσης 81

4.1.1 Ειδικές απαιτήσεις για μεθόδους GC/MS που πρέπει να τηρούνται 82

4.1.2 Ειδικές απαιτήσεις για βιολογικές δοκιμασίες με βάση κύτταρα 83

4.1.3 Ειδικές απαιτήσεις, για βιολογικές, δοκιμασίες με βάση συσκευασίες προπαρασκευασμένων αντιδραστηρίων (test kits) 84

4.2 Ανάλυση και σύγκριση των μεθόδων ανίχνευσης διοξινών και PCBs στη τροφική αλυσίδα 84

ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 89

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ 91

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

(P-) TWI: (Provisional) Tolerable Weekly Intake, (Προσωρινή) Ανεκτή Εβδομαδιαία Πρόσληψη

(US) EPA: (United States) Environmental Protection Agency, Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος (των Ηνωμένων Πολιτειών)

(I-) TEF: (International) Toxic Equivalent Factor, (Διεθνής) Παράγοντας Τοξικής Ισοδυναμίας

2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin, 2,3,7,8-Τετραχλωροδιβενζο-παραδιοξίνη

2,4,5-T: 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid, 2,4,5-τριχλωροφαινοξυοξικό οξύ

2,4-D: 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-διχλωροφαινοξυοξικό οξύ

Ab: Antibody, Αντίσωμα

Ag: Antigen, Αντιγόνο

AHH: Aryl Hydrocarbon Hydroxylase, Υδροξυλάση αρυλικού υδρογονάνθρακα

AhR: Aryl hydrocarbon Receptor, Αρυλικός υδρογονανθρακικός υποδοχέας

ARNT: Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator, Αρυλικός υδρογονανθρακικός υποδοχέας ατομικού μεταφραστή

ASE: Accelerated Solvent Extraction, Επιταχυνόμενη εκχύλιση διαλύτη

ASTDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Υπηρεσία Τοξικών Ουσιών και Μητρώου Ασθενειών

BASF: Baden Aniline and Soda Factory

C-decaBDE: Decabromodiphenyl ether, Δεκαβρωμοδιφαινυλαιθέρα

DDT: Dichloro-diphenyl-trichloroethane, Διχλωρο-διφαινυλο-τριχλωροαιθάνιο

DL-PCBs: Dioxin-Like Polychlorinated biphenyls, Παρόμοια με διοξίνες πολυχλωριωμένα διφαινύλια

DNA: Deoxyribonucleic Acid, Δεοξυριβονουκλεϊκό Οξύ

EFSA: European Food Safety Authority, Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων

ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent Assay, Τεχνική της Ενζυμοσύνδετης Ανοσοπροσροφητικής Μέτρησης

EROD: Ethoxyresorufin-O-deethylase, Αιθοξυρεσοροφιν-Ο-δεθυλάση

EU: European Union, Ευρωπαϊκή Ένωση

FBC: Fluidized Bed Combustion, Καύση Ρευστοποιημένης Κλίνης

FBO: Food Business Operator, Υπεύθυνος Επιχειρήσεων Τροφίμων

FMS: Fluid Management System, Σύστημα διαχείρισης ρευστού

GAFPS: Good Animal Feeding Practices, Καλές Πρακτικές Σίτισης των Ζώων

GAPS: Good Agricultural Practices, Ορθές Γεωργικές Πρακτικές

GLPS: Good Laboratory Practices, Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές

GMPS: Good Manufacturing Practices, Ορθές Βιομηχανικές Πρακτικές

GSPS: Good Storage Practices, Καλές Πρακτικές Αποθήκευσης

HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Points, Ανάλυση Κινδύνου και Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου

HAHs: Halogenated Aromatic Hydrocarbons, Αλογονωμένοι Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες

HBCD: Hexabromocyclododecane, Εξαβρωμοκυκλοδωδεκάνιο

H_c: Henry's law, Σταθερά νόμου Henry

HCB: Hexachlorobenzene, Εξαχλωροβενζόλιο

HCBD: Hexachlorobutadiene, Εξαχλωροβουταδιένιο

HCH: hexachlorocyclohexane, εξαχλωροκυκλοεξάνιο

HPCD: Heptachlorodibenzodioxin, Επταχλωροδιβενζοδιοξίνη

IARC: International Agency for Research on Cancer, Διεθνής Οργανισμός Ερευνών του Καρκίνου

ICMESA: Industrie Chimiche Meda Società Azionaria

IED: Industrial Emissions Directive, Οδηγία Βιομηχανικών Εκπομπών

IPPC: Integrated Pollution Prevention and Control, Ολοκληρωμένη Πρόληψη και Έλεγχος της Ρύπανσης

JECFA: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Μεικτή Επιτροπή Εμπειρογνώμων για τα Πρόσθετα Τροφίμων FAO/WHO

K_{oc}: Soil Organic Carbon-Water Partitioning Coefficient , Συντελεστής κατανομής οργανικού άνθρακα

K_{ow}: n-Octanol/Water Partition Coefficient, Συντελεστής κατανομής οκτανόλης/νερού

LCP: Large Combustion Plants, Μεγάλες Εγκαταστάσεις Καύσεις

LOAEL: Lowest Observed Adverse Effect Level, Ελάχιστο Επίπεδο που Παρατηρούνται Δυσμενείς Επιδράσεις

NATO/CCMS: North Atlantic Treaty Organization/Committee on the Challenges of Modern Society, Οργανισμός Βορειοατλαντικού Συμφώνου/Επιτροπή για τις Προκλήσεις της Σύγχρονης Κοινωνίας

NDL-PCBs: Non Dioxin-Like Polychlorinated biphenyls, Μη παρόμοια με διοξίνες πολυχλωριωμένα διφαινύλια

NOAEL: No Observed Adverse Effect Level, Επίπεδο που Δεν Παρατηρούνται Δυσμενείς Επιδράσεις

OCDD: Octachlorodibenzodioxin, Οκταχλωροδιβενζοδιοξίνη

PBDD: Polybrominated Dibenzo-p-dioxin, Πολυβρωμιωμένων Διβενζο-π-διοξινών

PBDF: Polybrominated dibenzofurans, Πολυβρωμιωμένων Διβενζοφουρανίων

PCBs: Polychlorinated biphenyls, Πολυχλωριωμένα διφαινύλια

PCDDs: Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, Πολυχλωριωμένες διβενζο-παρα-διοξίνες

PCDFs: Polychlorinated dibenzofurans, Πολυχλωριωμένα διβενζοφουράνια

PCN: Polychlorinated naphthalene, Πολυχλωριωμένη ναφθαλίνη

PCP: Pentachlorophenol, Πενταχλωροφαινόλη

PHAHs: Polyhalogenated Aromatic Hydrocarbons, Πολυαλογονωμένων Αρωματικών Υ-δρογονανθράκων

PLE: Pressurized Liquid Extraction, Εκχύλιση υγρού υπό πίεση

POPs: Persistent Organic Pollutants, Ανθεκτικοί Οργανικοί Ρύποι

PTMI: Provisional Tolerable Monthly Intake, Προσωρινή Ανεκτή Μηνιαία Πρόσληψη

PVC: Polyvinyl chloride, Πολυβινυλοχλωρίδιο

RfD: Reference Dose, Δόση αναφοράς

RIA: Radioimmunoassay, Ραδιοϊσοτοπικοί ανοσοπροσδιορισμοί

SCCPs: Short-chain chlorinated paraffins, Χλωριωμένες παραφίνες μικρής αλυσίδας

SCF: Scientific Committee on Food, Επιστημονική Επιτροπή για τα Τρόφιμα

TDI: Tolerable Daily Intake, Ανεκτή Ημερήσια Πρόσληψη

TEQ: Toxic Equivalent Quantity, Συγκέντρωση Ισοδύναμου Τοξικότητας

TRVs: Toxicity Reference Values, Τοξικολογική Τιμή Αναφοράς

UNEP: United Nations Environment Programme, Περιβαλλοντικό Πρόγραμμα των Ηνωμένων Εθνών

VP: Vapour Pressure, Τάση Ατμών

WHO: World Health Organization, Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

WS: Water Solubility, Υδατοδιαλυτότητα

ΆλφαHCH: Alpha hexachlorocyclohexane, άλφα εξαχλωροκυκλοεξάνιο

ΒΔΤ: Βέλτιστες Διαθέσιμες Τεχνικές

ΒήταHCH: Beta hexachlorocyclohexane, βήτα εξαχλωροκυκλοεξάνιο

ΕΕ: Ευρωπαϊκή Επιτροπή

ΕΦΕΤ: Ενιαίος Φορέας Ελέγχου Τροφίμων

ΗΠΑ: Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής

ΟΤΕ: Οριακές Τιμές Εκπομπών

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Τιμές TEF των τοξικότερων διοξινών, φουρανίων και πολυχλωριωμένων διφαινυλίων 37

Πίνακας 2: Μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα TEQ PCDD/Fs, TEQ PCBs και Indicator PCBs για τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα βοοειδή, πρόβατα, πουλερικά και χοίροι, αυγά και τρόφιμα για βρέφη και μικρά παιδιά 39

Πίνακας 3: Τοξικολογικές τιμές αναφοράς για τις διοξίνες και τα DL-PCBs καθορισμένοι από διεθνής οργανισμούς 57

Πίνακας 4: Επίπεδα δράσης TEQ PCDD/Fs και TEQ PCBs για τα βοοειδή, τα πρόβατα, τα πουλερικά, γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα 59

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Άμεσες και έμμεσες πορείες μετάδοσης διοξινών στην τροφική αλυσίδα [49] .. 44

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Χημικές δομές PCDDs, PCDFs και PCBs 12

Εικόνα 2: Χημική δομή TCDD 13

Εικόνα 3: Μηχανισμός δράσης των διοξινών 18

Εικόνα 4: Κύριες πηγές εκπομπής διοξινών 32

Εικόνα 5: Σχηματική αναπαράσταση της απελευθέρωσης διοξινών από πηγές εκπομπής, η μεταφορά στο περιβάλλον και η κατάληξη και συσσώρευση των διοξινών στην τροφική αλυσίδα και τελικά στον άνθρωπο 35

Εικόνα 6: Συσκευή Soxhlet 68

Εικόνα 7: Διαχωριστική χοάνη, η οργανική φάση (άνω φάση) έχει μικρότερη πυκνότητα από την υδατική φάση (κάτω φάση). Η κάτω φάση απορρίπτεται ενώ η άνω συλλέγεται σε σφαιρική φιάλη 70

Εικόνα 8: Σύστημα χρωματογραφίας άνθρακα 73

Εικόνα 9: Φασματόμετρο αέριας χρωματογραφίας-μάζας υψηλής ανάλυσης 76

Εικόνα 10: Elisa Test kit για ανάλυση διοξίνης 78

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΙΟΞΙΝΕΣ ΚΑΙ ΠΟΛΥΧΛΩΡΙΩΜΕΝΑ ΔΙΦΑΙΝΥΛΙΑ

1.1 Ανθεκτικοί οργανικοί ρύποι

Ανθεκτικοί οργανικοί ρύποι είναι οργανικές ενώσεις που έχουν φυσική η ανθρωπογενής προέλευση και έχουν φυσικές και χημικές ιδιότητες τέτοιες ώστε όταν αφεθούν στο περιβάλλον παραμένουν άθικτες για εξαιρετικά μεγάλο χρονικό διάστημα (βιοσυσσώρευση), αφού αντιστέκονται στη πρωτεολυτική, χημική και βιολογική αποσύνθεση. Τα POPs μεταφέρονται στο περιβάλλον σε χαμηλές συγκεντρώσεις από την κίνηση του γλυκού και θαλασσινού νερού και καθώς είναι ημιπτητικές, μεταφέρονται σε μεγάλες αποστάσεις μέσω της ατμόσφαιρας. Το αποτέλεσμα είναι η ευρεία κατανομή των POPs σε όλη την εμφύλιο, ακόμα και σε περιοχές που δεν έχουν χρησιμοποιηθεί πότε. Τα POPs χαρακτηρίζονται από χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, υψηλή λιποδιαλυτότητα με αποτέλεσμα την βιοσυσσώρευση στο λιπώδη ιστό στους ζωντανούς οργανισμούς, όπως ο άνθρωπος και ανευρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα υψηλοτέρα επίπεδα της τροφικής αλυσίδας. Επίσης, ο άνθρωπος όπως και οι υπόλοιποι οργανισμοί εκτίθενται στα POPs σε όλο το κόσμο σε πολλές περιπτώσεις για εκτεταμένα χρονικά διαστήματα και για πολλές γενεές, με αποτέλεσμα οξείες και χρόνιες τοξικές επιδράσεις στον άνθρωπο και την άγρια ζωή. [1]

Τις τελευταίες δεκαετίες, η επικινδυνότητα των POPs συγκεντρώνει ολοένα και περισσότερο ενδιαφέρον για πολλές χώρες, οι οποίες οδηγήθηκαν σε ενέργειες οι οποίες έχουν ληφθεί ή προτείνονται σε εθνικό, περιφερειακό η διεθνές επίπεδο, προκείμενου να προστατέψουν την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον.

Έχοντας επίγνωση του γεγονότος ότι οι ανθεκτικοί οργανικοί ρύποι αποτελούν αυξανόμενη απειλή για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον τον Μάιο του 1995 το διοικητικό συμβούλιο UNEP ζήτησε στην απόφαση του αρ. 18/32 να διεξαχθεί μια διεθνής διαδικασία αξιολόγησης ενός αρχικού καταλόγου 12 POPs. Η συνθήκη εγκρίθηκε στις 22-23 Μαΐου του 2001 και τέθηκε σε ισχύ στις 17 Μαΐου του 2004. [2] Υπάρχουν 3 κατηγορίες POPs τα φυτοφάρμακα, οι βιομηχανικές χημικές ουσίες και τα ακούσια παραγόμενα παραπροϊόντα ορισμένων χημικών διεργασιών και διαδικασιών καύσης.

Τα φυτοφάρμακα είναι χημικά παρασκευάσματα που καταστρέφουν τα φυτά, μύκητες ή παράσιτα χρησιμοποιήθηκαν ακόμα και σε μικρή κλίμακα από τις αρχαίες εποχές.

Αλδρίνη, χλωρδάνιο, χλωρεξινόνη, διχλωρο-διφαινυλο-τριχλωροαιθάνιο (DDT), διελδρίνη, ενδρίνη, επταχλώριο, εξαχλωροβενζόλιο (HCB), μίρεξ, τοξοφαίνιο, άλφα εξαχλωροκυκλοεξάνιο, βήτα εξαχλωροκυκλοεξάνιο, λινδάνιο, πενταχλωροβενζόλιο, πενταχλωροφαινόλη μαζί με τα άλατα και τους εστέρες της, τεχνικό ενδοσουλφάν και τα σχετικά ισομερή του. [3]

Οι βιομηχανικές χημικές ουσίες είναι χημικές ουσίες που έχουν αναπτυχθεί για βιομηχανική χρήση στην επεξεργασία χημικών ουσιών.

Ορισμένα βιομηχανικά χημικά ανήκουν στα POPs αυτά είναι Εξαβρωμοδιφαινύλιο, εξαβρωμοκυκλοδωδεκάνιο (HBCD), εξαβρωμοδιφαινυλαιθέρα και επταβρωμοδιφαινυλαιθέρα, εξαχλωροβενζόλιο(HCB), εξαχλωροβουταδιένιο, πενταχλωροβενζόλιο, πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCB), πολυχλωριωμένες ναφθαλίνες (PCNs), τετραβρωμοδιφαινυλαιθέρας και πενταβρωμοδιφαινυλαιθέρας υπερφθοροκτανοσουλφονικό οξύ, τα άλατά του και υπερφθοροοκτανοσουλφονυλοφθορίδιο, χλωριωμένες παραφίνες μικρής αλυσίδας (SCCPs), δεκαβρωμοδιφαινυλαιθέρα (εμπορικό μίγμα, c-decaBDE).

Μερικοί ανθεκτικοί οργανικοί ρύποι (POPs) είναι υποπροϊόντα που παράγονται ακούσια και απελευθερώνονται στο περιβάλλον κατά την καύση ή κατά τη διάρκεια ορισμένων χημικών διεργασιών. Για παράδειγμα, οι διοξίνες, τα φουράνια, η άλφα-HCH και η βήτα-HCH δεν παράγονται ποτέ σκόπιμα (εκτός από εργαστηριακούς σκοπούς). Η διοξίνη, για παράδειγμα, ένα από τα αρχικά "Dirty Dozen" της Σύμβασης της Στοκχόλμης, τυπικά παράγεται κατά τη διάρκεια της αποτέφρωσης. Δύο άλλοι, PCB και HCB, παράγονται τόσο σκόπιμα όσο και ακούσια.

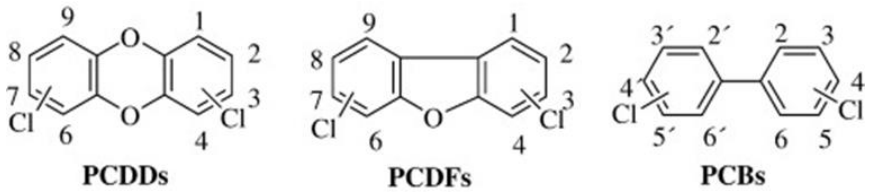
Στα ακούσια παραγόμενα προϊόντα ανήκουν: εξαχλωροβενζόλιο (HCB), εξαχλωροβουταδιένιο (HCBD), πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCB), πολυχλωριωμένες διβενζο-ρ-διοξίνες, πολυχλωριωμένα διβενζοφουράνια (PCDD/PCDF) και PCB, πολυχλωριωμένα ναφθαλίνες , άλφα εξαχλωροκυκλοεξάνιο, βήτα εξαχλωροκυκλο-εξάνιο, πενταχλωροβενζόλιο.

1.2 Δομή

Οι διοξίνες ανήκουν σε μια ομάδα 75 πολυχλωριωμένων διβενζο-p-διοξινών (PCDD) και 135 πολυχλωριωμένων διβενζοφουρανίων (PCDF), 17 από τις οποίες είναι ιδιαίτερα τοξικές. Τα πολυχλωροδιφαινύλια (PCB) είναι μια ομάδα 209 διαφορετικών ομοειδών ουσιών που είναι δυνατόν να διαχωριστούν σε δύο ομάδες σύμφωνα με τις τοξικολογικές τους ιδιότητες: 12 από αυτές εμφανίζουν τοξικολογικές ιδιότητες παρόμοιες με τις ιδιότητες των διοξινών και, για τον λόγο αυτό, συχνά αναφέρονται ως «παρόμοια με τις διοξίνες PCB» (DL-PCB). Τα υπόλοιπα PCB δεν εμφανίζουν τοξικότητα παρόμοια με την τοξικότητα των διοξινών, αλλά έχουν διαφορετικά τοξικολογικά χαρακτηριστικά και αναφέρονται ως «μη παρόμοια με τις διοξίνες PCB» (NDL-PCB). [4]

Στην περίπτωση των 12 DL-PCBs, υπάρχουν δυο αντίθετες διαμορφώσεις του μορίου τους. Μια είναι η επίπεδη δομή στην οποία οι δυο βενζολικοί δακτύλιοι βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο η άλλη είναι η μη-επίπεδη διαμόρφωση του μορίου όπου οι βενζολικοί δακτύλιοι έχουν γωνία 90° μεταξύ τους. Η επίπεδη διαμόρφωση του μορίου καθορίζεται από τον αριθμό των υποκαταστάσεων στις ορθο θέσεις (2,2′,6,6′). Οι βενζολικοί δακτύλιοι όταν δεν είναι παρόντα άτομα χλωρίου έχουν επίπεδη σύνθεση (non-ortho PCBs) παρόμοια με εκείνη των διοξινών και φουρανίων και αναφέρονται ως επίπεδα ομοειδή. Η αντικατάσταση ατόμων υδρογόνου στις ορθο θέσεις με άτομα χλωρίου αναγκάζει τους αρωματικούς δακτυλίους να περιστρέφονται εκτός της επίπεδης διαμόρφωσης τέτοιες δομές αναφέρονται ως μη επίπεδη σύνθεση (mono-ortho PCBs), δεδομένου ότι το χλώριο είναι μεγαλύτερο από το υδρογόνο και δημιουργεί μεγαλύτερη στερεοχημική παρεμπόδιση προς την περιστροφή. [5]

Τα non-ortho PCB ή mono-ortho υποκατεστημένα PCB στο περιβάλλον και στα τρόφιμα γενικά αποτελούν ένα μικρό ποσοστό της συνολικής μόλυνσης με PCB. Η τοξικότητα των παρόμοιων με διοξίνες 12 αυτών PCB είναι 10-100.000 μικρότερη απ΄αυτή του TCDD. [6]

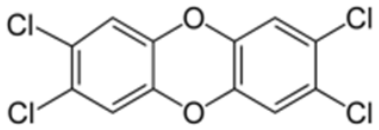


Εικόνα 1: Χημικές δομές PCDDs, PCDFs και PCBs

Οι διοξίνες έχουν το μοριακό τύπο $C_{12}H((_{8-n})O_2Cl_n$ όπου n>2 και τα φουράνια το μοριακό τύπο $C_{12}H(_{8-n})OCl_n$ όπου n>2. [7] Ενώ για τα PCBs είναι $C_{12}H_{10-n}Cl_n$ όπου 1<n<10.

PCDD/Fs έχουν μια δομή τριπλού δακτυλίου που αποτελείται από δυο βενζολικούς δακτυλίους που συνδέονται με ένα η δύο οξυγόνα (PCDFs και PCDDs αντίστοιχα). Αυτά τα μόρια έχουν οκτώ δυνατές θέσεις που μπορεί να συμβεί υποκατάσταση ενός αλογόνου σε αυτή τη περίπτωση χλωρίου (Εικόνα 1). [4]

Η τοξικότητα των μεμονωμένων διοξινών και φουρανίων διαφέρει αρκετά. Από το σύνολο των 210 ενώσεων, τα ισομερή με 1 έως 3 άτομα χλωρίου δεν θεωρούνται τοξικά. Από τις υπόλοιπες ενώσεις, τοξικές ιδιότητες εμφανίζουν εκείνες οι οποίες παρουσιάζουν υποκατάστατες χλωρίου στις θέσεις 2,3,7 και 8. Έτσι, 7 παράγωγα από τις 75 διοξίνες και 10 από τα 135 φουράνια παρουσιάζουν υψηλή τοξικότητα, ενώ 2,3,7,8 τετραχλωρο-διβενζο-π-διοξίνη (γνωστή και ως διοξίνη του Seveso) έχει τη μεγαλύτερη τοξικότητα απ' όλες (Εικόνα 2). [8] Ιδιαίτερα ο παγκόσμιος οργανισμός ερευνών για τον καρκίνο (IARC) κατέταξε το TCDD καρκινογενή για τον άνθρωπο (Κατηγορία 1). [9]



TCDD

Εικόνα 2: Χημική δομή TCDD

1.3 Φυσικές και χημικές ιδιότητες

Η γνώση των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων είναι απαραίτητη για την κατανόηση και τη μοντελοποίηση της περιβαλλοντικής μεταφοράς και μετασχηματισμού των οργανικών ενώσεων όπως οι παρόμοιες με διοξίνες ενώσεις. Οι ιδιότητες που είναι πιο σημαντικές για την κατανόηση της περιβαλλοντικής συμπεριφοράς των διοξινών και παρόμοιων με διοξίνες ενώσεις φαίνεται να είναι η υδατοδιαλυτότητα (WS), τάση α-

τμών (VP), ο συντελεστής κατανομής οκτανόλης/νερού (K_{ow}), ο συντελεστής κατανομής οργανικού άνθρακα (K_{oc}) και η φωτοχημική κβαντική απόδοση.

Η αναλογία VP προς WS (VP/WS) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό της σταθεράς νόμου Henry (H_c) για αραιά διαλύματα οργανικών ενώσεων όταν τα VP και WS μετριούνται στην ίδια θερμοκρασία και στην ίδια φυσική κατάσταση. Η σταθερά του Henry είναι ένας δείκτης διαχωρισμού για μια ουσία μεταξύ της ατμοσφαιρικής και της υδάτινης φάσης. [10]

Οι χημικές ιδιότητες των διοξινών είναι

- Λιπόφιλες ενώσεις
- Αδιάλυτες στο νερό
- Διαλυτές σε οργανικούς διαλύτες και ζωικό λίπος
- Είναι άχρωμες και άοσμες
- Θερμική σταθερότητα μέχρι (700 ^{o}C)
- Σταθερότητα στην επίδραση χημικών αντιδραστηρίων (οξέων, βάσεων, οξειδωτικών, αναγωγικών)
- Ανθεκτικότητα στη φωτόλυση και υδρόλυση σε κανονικές συνθήκες περιβάλλοντος

Οι διοξίνες γενικά είναι άχρωμα στερεά. Είναι γενικά σταθερές, που δεν αντιδρούν εύκολα σε άλλες χημικές ουσίες, οξέα και αλκάλια, αλλά πιστεύεται ότι αποσυντίθενται σταδιακά παρουσία ηλιακού υπεριώδους φωτός. [11] Αυτές οι ουσίες χαρακτηρίζονται από χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και υψηλή λιποδιαλυτότητα λόγω του υψηλού βαθμού αλογόνωσης έτσι έχουν την τάση να διαπερνούν εύκολα την φωσφολιπιδική στιβάδα των βιολογικών μεμβρανών και συσσωρεύονται στα λιπιδικά στρώματα. Πολλοί ανθεκτικοί οργανικοί ρύποι είναι γνωστοί για τη επιμονή τους στο περιβάλλον, τη μεγάλη ημιζωή και έχουν την ικανότητα να συγκεντρώνονται σε οργανισμούς (βιοσυσσώρευση) και στην αλυσίδα διατροφής (βιομεγέθυνση).

Ο Ζιτκο (1979) πρότεινε ότι τα βρωμοδιφαινύλια με πέντε ή περισσότερους υποκατάστατες τείνουν να συσσωρεύονται σε έναν μικρότερο βαθμό από τα χλωροδιφαινύλια και οι υψηλά χλωριωμένες ενώσεις διφαινυλίου τείνουν να συσσωρεύονται σε μεγαλύτερο βαθμό από τα λιγότερο χλωριωμένα PCBs. Ο μεταβολισμός και η εναπό-

θεση φαίνεται ότι είναι αντιστρόφως ανάλογα του βαθμού χλωρίωσης με τα υψηλά χλωριωμένα διφαινίλια να είναι πολύ πιο επίμονα από τα λιγότερο χλωριωμένα PCBs.

Οι διοξίνες είναι συνήθως ημιπτητικές, ένα χαρακτηριστικό που τους δίνει την ικανότητα να μεταφέρονται σε μεγάλες αποστάσεις. Μπορούν να μετακινηθούν με αυτό τον τρόπο μεγάλες αποστάσεις χρησιμοποιώντας την ατμόσφαιρα ως μεταφορικό μέσω. Η εξάτμιση μπορεί να εμφανιστεί από επιφάνειες φυτών και εδάφους κατ' εφαρμογή των κανόνων για τους ανθεκτικούς οργανικούς ρύπους που χρησιμοποιούνται ως παρασιτοκτόνα.

Οι ενώσεις που είναι παγιδευμένες στο έδαφος παραμένουν διαθέσιμες για να εξατμιστούν κάποια άλλη στιγμή σχεδόν επ' αόριστο ή μέχρι τη χημική ή μικροβιολογική τους υποβάθμιση. Αύτη η διαδικασία εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις μετεωρολογικές συνθήκες, συμπεριλαμβάνοντας την εξάρτηση από τη θερμοκρασία και τη τάση ατμών.

Όπως φαίνεται οι οργανοχλωριωμένες ενώσεις έχουν πολλαπλές φυσικόχημικές ιδιότητες. Κυκλικές, αρωματικές, με κυκλοδιενικό τύπο χλωριούχες υδρογονανθρακικές ενώσεις όπως χλωριωμένα φυτοφάρμακα με μοριακό βάρος μεγαλύτερο από 236 g/mol.

Εξαιτίας της αντίστασης τους στην αποδόμηση και διάσπαση τους, οι ανθεκτικοί οργανικοί ρύποι δεν απεκκρίνονται εύκολα και αυτοί οι ρύποι (τοξαφαίνιο, PCBs κτλ) αντιστέκονται περισσότερο στο μεταβολισμό και την εναπόθεση τείνουν να συγκεντρώνονται στους οργανισμούς μέσω της τροφικής αλυσίδας. Ιδιαίτερα κάποιοι οργανικοί ρύποι μπορούν να μετατρέπονται σε πιο επίμονους μεταβολίτες σε σχέση με τη γονική ένωση. [12]

Στην περίπτωση των ομόλογων PCBs, το ανόθευτο καθαρό PCB είναι άχρωμο η ελαφρώς κιτρινωπό συχνά άοσμες, κρυσταλλικές ενώσεις. Τα εμπορικά προϊόντα ωστόσο είναι παχύρευστα ρευστά μείγματα αυτών των ενώσεων, με το ιξώδες να αυξάνεται όσο αυξάνετε και ο βαθμός χλωρίωσης και το χρώμα ποικίλει από ελαφρώς κίτρινο σε πιο σκούρο χρώμα. Αυτά τα προϊόντα δεν κρυσταλλώνονται σε χαμηλές θερμοκρασίες αλλά μετατρέπονται σε στερεές ρητίνες. Μια σημαντική ιδιότητα των PCBs είναι η γενική αδράνεια τους, αντιστέκονται στα οξέα, αλκάλια, οξειδωτικά και είναι άφλεκτα εξαιτίας του υψηλού σημείου ανάφλεξης.

Το σημείο τήξης ποικίλει από 25 ^{o}C (PCB-2, PCB-7, PCB-9 έως και 306 ^{o}C (PCB-209) και αυξάνει με το βαθμό χλωρίωσης. Το σημείο βρασμού ποικίλει από χαμηλά επίπεδα (μονοχλωροδιφαινύλιο 285 ^{o}C,) έως και υψηλά επίπεδα (δεκαχλωροδιφαινύλιο, 456 ^{o}C). Η διαλυτότητα στο νερό είναι εξαιρετικά χαμηλή για τα ομόλογα χλωροδιφαινύλια που υπάρχουν ευρέως. Τα PCBs είναι διαλυτά σε μη πολικούς οργανικούς διαλύτες, έλαια και βιολογικά λίπη, και η λιποδιαλυτότητα εξαρτάται από το βαθμό χλωρίωσης.

Ο συντελεστής κατανομής οκτανόλης/νερού (K_{ow}) ορίζετε ως η αναλόγια μιας χημικής συγκέντρωσης στη φάση οκτανόλης προς τη συγκέντρωση στην υδάτινη φάση των δυο φάσεων του συστήματος οκτανόλης-νερού. Τα PCBs τείνουν προς μη πολικές φάσεις και θα διαχωριστούν από το νερό στα περισσότερα στερεά, η οργανική είναι η προτιμώμενη θέση. Τα PCBs χαρακτηρίζονται από τη σταθερά του Henry που τείνει να ελαττώνεται όσο υψηλότερος είναι ο βαθμός χλωρίωσης. Ομόλογα PCB λιγότερο χλωριωμένα έχουν αρκετά υψηλότερη τάση ατμών.

Σε υψηλές θερμοκρασίες, τα PCB είναι καύσιμα και τα προϊόντα καύσης περιλαμβάνουν πολυχλωριωμένα διβενζοφουράνια (PCDFs) και υδροχλωρίδιο και πολυχλωριωμένες διβενζοδιοξίνες (PCDDs). [5]

1.4 Μηχανισμός δράσης

Οι αποφάσεις σχετικά με τον τρόπο μείωσης των δυσμενών επιπτώσεων οποιασδήποτε τοξικής χημικής ουσίας μπορούν να είναι πολύ πιο αποτελεσματικές αν γνωρίζουμε τον τρόπο με τον οποίο δρουν. Για τις διοξίνες και τα HAHs η κατανόηση του μηχανισμού τους προέκυψε από την ανακάλυψη του αρυλικού υδρογονανθρακικού υποδοχέα (AhR) από τους Poland και συνεργάτες το 1976. Ο υποδοχέας Ah (ηπατική πρωτεΐνη) που δεν έχει ακόμη καταληφθεί από ένα συνδέτη βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα και παρασκευάζεται από κύτταρα ή ιστούς. [13]

Αναφορικά με την τοξικότητα τους, ο μηχανισμός της δράσης τους χαρακτηρίζεται από τη δυνατότητα τους να συνδέονται με τον αρυλικό υδρογονανθρακικό υποδοχέα AhR, ο οποίος απαντά σε όλους τους ιστούς των τρωκτικών ζώων και του ανθρώ-

που και με τη βοήθεια της πρωτεΐνης ARNT να συνδέεται στον κυτταρικό παράγοντα AhR-TCDD. Η σύνδεση τους αυτή έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της αντιγραφικής ευαισθησίας κάποιων γονιδίων, η οποία όμως έχει αποδειχθεί, ότι δεν έχει σχέση με μηχανισμούς καρκινογένεσης (Εικόνα 3). Κάθε μόριο αρυλικού υδρογονανθρακικού υποδοχέα AhR συνδέεται με ένα μόριο TCDD και σε μικρές συγκεντρώσεις διοξίνης η σύνδεση της με τον υποδοχέα AhR φαίνεται να είναι γραμμική. [9] [14]

Οι διοξίνες συνδέονται μη αντιστρεπτά με τον AhR, ο οποίος παίζει ρυθμιστικό ρόλο στη μεταγραφή λόγω της εμπλοκής του στη μεταβολή έκφρασης διαφόρων γονιδίων. Το σύμπλεγμα AhR-διοξίνη μεταφέρεται από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα του κυττάρου, συνδέεται με το DNA σε συγκεκριμένες αλληλουχίες 5'-πρόδρομων περιοχών γονιδίων (π.χ. CYP1A1 γονίδιο του κυτοχρώματος P450), με αποτέλεσμα ρύθμιση της μεταγραφής και μετάφρασής τους. Τελικά, συμβαίνουν αλλαγές σε σειρά βιοχημικών, κυτταρικών και ιστικών διεργασιών. Αφού λοιπόν το TCDD δεν είναι άμεσα γονιδιοτοξικό, η καρκινογόνος δράση του φαίνεται να είναι αποτέλεσμα της συμπεριφοράς του ως «υποκινητής» όγκων (promoter tumor) [15]

Ορισμένα HAHs (πολυχλωριωμένα διφαινύλια, πολυχλωριωμένες διοξίνες, πολυχλωριωμένα διβενζοφουράνια), η τοξικότητα των μεμονωμένων ισομερών και ομοειδών συνδέεται στενά με τη συγγένεια με την οποία οι ενώσεις συνδέονται με το AhR οι πιο τοξικές ενώσεις είναι εκείνες που συνδέονται πιο ισχυρά. [13]

Το TCDD προσαρμόζεται πιο στενά με τις διαστάσεις της υποτιθέμενης θέσης δέσμευσης και δεσμεύεται πιο έντονα και είναι επίσης βιολογικά το πιο ισχυρό ομοειδές της οικογένειας PCDD. [13]

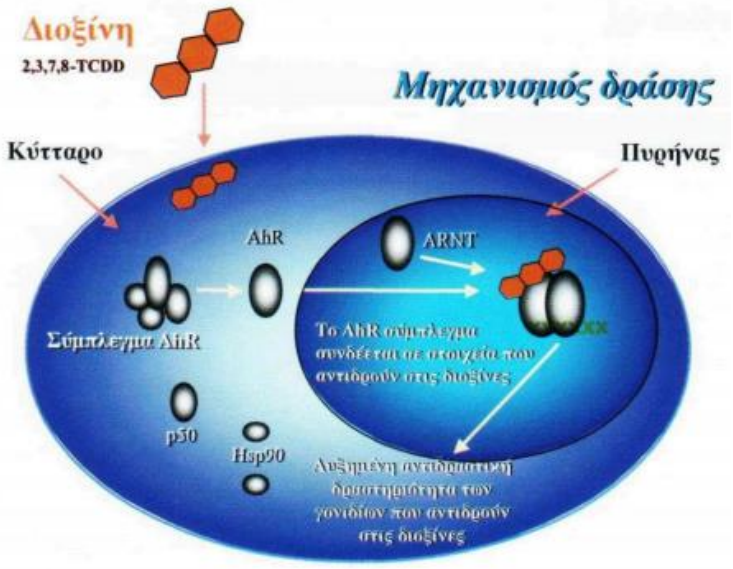
Για τα PCDDs και PCDFs, η συγγένεια για τον υποδοχέα Ah (AhR) αυξάνεται όταν οι ομοειδές ουσίες αντικαθίστανται και στις τέσσερις πλευρικές θέσεις. Τέτοιες ομοειδές ουσίες έχουν επίπεδη διαμόρφωση, όπως η 2,3,7,8-TCDD που είναι η πιο τοξική ουσία.

Η τοξικολογία των PCB είναι πολύπλοκη, επειδή τα ίδια τα PCB ανταγωνίζονται ασθενώς με το TCDD για θέσεις υποδοχέων Ah. PCBs που περιέχουν δυο παρά- και τουλάχιστον δυο μετά- άτομα χλωρίου, αναφέρονται επίσης ως μη-ορθο ή επίπεδα PCBs μοιάζουν περισσότερο με το 2,3,7,8-TCDD στη δέσμευση τους από τον Ah υποδοχέα. Η προσθήκη ατόμων χλωρίου στην ορθό θέση μειώνει τη δέσμευση στον Ah υ-

ποδοχέα. Αλλά παρά τη χαμηλή δέσμευση με τον Ah υποδοχέα πολλές τοξικές απεκκρίσεις έχουν βρεθεί ως αποτέλεσμα της έκθεσης σε μονο- και διορθο ομοειδές PCBs συμπεριλαμβανομένων νευροτοξικών, καρκινογόνων και ενδοκρινολογικών αλλαγών. [16]

Το ARNT διατηρήθηκε φυλογενετικά κατά τη διάρκεια του εξελικτικού χρόνου και στους ανθρώπους και στα ζώα σε διάφορες παρόμοιες μορφές και είναι απαραίτητο για την επιβίωση του εμβρύου. [17] Υπάρχουν μελέτες που υποδεικνύουν ότι η τοξικότητα των διοξινών οφείλεται στην ενεργοποίηση του AhR εμποδίζοντας το να λειτουργήσει σωστά για τη διατήρηση της ομοιόστασης του δέρματος αυτό δεν σημαίνει βέβαια ότι ευθύνονται για το μεγαλύτερο μέρος της τοξικότητας. [18]

Για παράδειγμα, η προσέγγιση του Matsumura και συνάδελφων ορίζοντας την άμεση επίδραση του TCDD στις πλασματικές μεμβράνες μπορεί να είναι ένα παράδειγμα διαδικασιών που δεν προκαλούνται από τον υποδοχέα Ah. Μελέτες από αυτήν την ομάδα έχουν δείξει ότι μια ποικιλία σημαντικών αλλαγών συμβαίνουν εντός της πλασματικής μεμβράνης σε απόκριση TCDD. [13] Βασιζόμενοι στον Ah υποδοχέα αναπτύχθηκε η ιδέα του παράγοντα τοξικής ισοδυναμίας (TEF) που θα αναπτυχθεί αναλυτικά παρακάτω. [16]



Εικόνα 3: Μηχανισμός δράσης των διοξινών

1.5 Ιστορικό παραγωγής διοξινών

Η ιστορία της ανθρωπογενούς παραγωγής διοξινών και της δηλητηρίασης από διοξίνες είναι σχεδόν 200 ετών και παραμένει μέχρι σήμερα. Τα πρώτα στοιχεία ανθρωπογενών μορίων διοξίνης προέρχεται από ένα γερμανικό εργοστάσιο παραγωγής χημικών στο Lampertheim, της νότιας Hesse που κατασκεύαζε σόδα για πλύσιμο (ανθρακικό νάτριο, επίσης γνωστό ως sal soda ή soda ash) από τη διαδικασία LeBlanc ήδη από το 1827, και μέχρι τουλάχιστον το 1890, όταν αντικαταστάθηκε με ηλεκτρόλυση χλωριούχων αλκαλίων και οι δύο διεργασίες δημιουργούσαν διοξίνη.

Μόλις, στη δεκαετία του 1980 όταν μια παιδική χαρά και μια εγκατάσταση που προορίζονται για παιδιά είχε προγραμματιστεί να κατασκευαστεί σε χώρο όπου υπήρχε εργοστάσιο, εντοπίστηκε η εκτεταμένη μόλυνση του εδάφους από διοξίνες. Πολλές δεκαετίες μετά, την έναρξη της ρύπανσης του χώρου αυτού, χαρακτηρίστηκε η χλωρική ακμή για πρώτη φορά το 1897. Αυτή η επίμονη κυστική και υπερκερατωσική δερματοπάθεια, πρωτοεμφανίστηκε σε γερμανούς βιομηχανικούς εργάτες, παραμένει ένα χαρακτηριστικό της έκθεσης σε διοξίνες [19]. Όσο αφορά τα PCBs η χρήση τους ξεκίνησε στις αρχές του 20^{ου} αιώνα για εμπορική παραγωγή.

1.5.1. Σημαντικά γεγονότα και περιστατικά

1791 (μέχρι περίπου το 1900) Leblanc παραγωγή σόδας και προσκείμενη ανακύκλωση αποβλήτων HCl για την παραγωγή χλωρίου και χλωριωμένης κιμωλίας.

1872 Σύνθεση OCDD από τους Merz και Weith.

1890s Έναρξη παραγωγής χλωριούχων αλκαλίων στη Γερμανία.

1897/1899 Σοβαρή ακμή που περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Von Betman το 1897 σε εργαζόμενους με χλωριούχα αλκάλια. Ο Herxheimer ονόμασε την ασθένεια χλωρική ακμή μέχρι τότε θεωρούταν ότι προκαλούνταν από το χλώριο.

1900 Αρχή της παραγωγής χλωριούχων αλκαλίων στις ΗΠΑ.

1918 Η πρώτη αναφορά χλωρικής ακμής από την παραγωγή PCN.

1920 και έπειτα ταυτόχρονα με την παραγωγή χλωριωμένων αρωματικών ενώσεων, οι εργαζόμενοι στην παραγωγή και την εφαρμογή ανέπτυξαν συχνά χλωρική ακμή και ηπατικές βλάβες. Συγκεκριμένα, οι ηπατικές βλάβες οδήγησαν σε θάνατο σε ορισμένες περιπτώσεις.

1936 Ξεκίνησε η παραγωγή PCPs.

1940-1945 Ανακάλυψη των 2,4-διχλωροφαινοξυοξικού οξέος (2,4-D) και 2,4,5-τριχλωροφαινοξυοξικού οξέος (2,4,5-T), ως μέσα πολέμου από στρατιωτική έρευνα των ΗΠΑ και Αγγλίας. Σκόπευαν να χρησιμοποιήσουν τις χημικές ουσίες για καταστροφή μέρους της συγκομιδής ρυζιού στον πόλεμο κατά της Ιαπωνίας. [20]

1929-1978 Ξεκίνησαν να παράγονται αναπόφευκτα μείγματα που περιείχαν παρόμοια με διοξίνες PCBs για εμπορικές χρήσεις.

Το 1947, η νόσος Χ, μια υπερκερατωσική δερματοπάθεια παρόμοια με τη χλωρική ακμή η οποία οδηγεί και στο θάνατο, αναφέρθηκε για πρώτη φορά σε αμερικανικά βοοειδή και αργότερα αποδείχθηκε ότι προέκυψε από έκθεση σε ενώσεις παρόμοιες με διοξίνες.

1949 έκρηξη σε ένα εργοστάσιο χημικών της Monsanto στο Nitro της Δυτικής Βιρτζίνια είχε ως αποτέλεσμα την έκθεση των εργαζομένων στο μολυσμένο με διοξίνη ζιζανιοκτόνο, 2,4,5-τριχλωροφαινοξυοξικό οξύ (2,4, 5-T), και επίμονη χλωρική ακμή παρατηρήθηκε στα εκτεθειμένα άτομα.

Το 1957 σημειώθηκε μαζική θανάτωση κοτόπουλων στις Η.Π.Α μέσω μιας ασθένειας που ονομάστηκε «chick edema factor» βρέθηκε ότι προκαλείται από μολυσμένες με TCDD ζωοτροφές. [19]

1957 Ανακάλυψη 2,3,7,8-TCDD ως αιτία χλωρικής ακμής από την Sorge σε παραγωγή 2,4,5-T στο Αμβούργο.

1962 Η Rachel Carlson δημοσιεύει το «Silent spring» και προσεγγίζει το κοινό και τους πολιτικούς. [20]

Ανάμεσα σε 1962 και 1970 ο Πορτοκαλί Παράγοντας ψεκάστηκε από αεροπλάνα και ελικόπτερα κατά τη διάρκεια του πολέμου με το Βιετνάμ. Αυτό το ζιζανιοκτόνο ήταν ένα μείγμα περίπου ίσων ποσοτήτων από 24-D και 245-T το τελευταίο κατασκευάστηκε από 2,4,5-τριχλωροφαινόλη. Ως αποτέλεσμα της χρήσης αυτού του αρχικού υλικού, ήταν το 245-T και έτσι ο Πορτοκαλί Παράγοντας μολύνθηκε με μικρές ποσότητες 2,3,7,8-TCDD. [41]

Το 1968 συνέβη ατύχημα στο Kyushu της Ιαπωνίας το λάδι ρυζιού μιας εταιρίας μολύνθηκε με PCB και PCDFs, και το μολυσμένο λάδι πωλήθηκε και τροφοδοτήθηκε σε ζώα και ανθρώπους, με αποτέλεσμα τον θάνατο εκατοντάδων χιλιάδων πτηνών, στους ανθρώπους επίσης παρατηρήθηκαν σοβαρές παθήσεις, αναφέρθηκε ως ασθένεια «Yusho». [42]

Το 1971 μια ολόκληρη πόλη στις Ηνωμένες Πολιτείες εκτέθηκε σε υψηλά επίπεδα διοξινών όταν μολυσμένα χρησιμοποιημένα ορυκτέλαια εξαπλώθηκαν στους χωματόδρομους του Times Beach, στο Missouri, για τον έλεγχο της σκόνης και την ίδια χρονιά το TCDD αναγνωρίστηκε ως τερατογόνο. [43]

1976 Απαγόρευση του Κογκρέσου για την πώληση και τη χρήση PCBs στις ΗΠΑ, ως μέρος του νόμου περί ελέγχου τοξικών ουσιών.

1976 Ατύχημα στην ιταλική πόλη Seveso ύστερα από έκρηξη κατά την παραγωγή 2,4,5-T στην εταιρεία ICMESA. [19]

1977 Ο Olie και ο Hutzinger ανακάλυψαν PCDD/PCDF στις εκπομπές αποτέφρωσης αστικών αποβλήτων. [20]

Το 1979 συνέβη ατύχημα στο Taiwan με λάδι ρυζιού μολυσμένο με PCBs και PCDFs αναφέρθηκε στα κινέζικα ως ασθένεια «Yucheng». [19]

1980 Εκκένωση καναλιού love canal στις ΗΠΑ.

1980 Πρώτο συνέδριο διοξινών στη Ρώμη/Ιταλία που ξεκίνησε από τον καθηγητή Otto Hutzinger. [20]

Το 1980 στις ΗΠΑ στην περιοχή των Great lakes παρατηρήθηκε μειωμένη αναπαραγωγή πέστροφας, στα τέλη της δεκαετίας του 1970, μελέτες στη ίδια περιοχή αξιολόγησαν το

μητρικό γάλα που συλλέχθηκε από θηλάζουσες μητέρες στο Μίτσιγκαν και αποκάλυψε εκτεταμένη έκθεση σε PCB, αποτέλεσμα της υψηλής κατανάλωσης ψαριών από μολυσμένα ύδατα.

1981 στο Binghamton, Νέα Υόρκη ένας PCB μετασχηματιστής με διηλεκτρικό υγρό κάηκε στο υπόγειο του κτιρίου Binghamton State Office, εναποτέθηκαν υψηλά επίπεδα PCDDs, PCDFs το κτήριο έκλεισε για 13 χρόνια και καθαρίστηκε.

1983 Εκκένωση περιοχής Times Beach στο Μισούρι των ΗΠΑ, η πόλη κατεδαφίστηκε. [19]

1983–1985 Ο γενικός πληθυσμός σε βιομηχανικές χώρες βρέθηκε να έχει μολυνθεί με PCDD/Fs.

1984 Κλείσιμο εργοστασίου 2,4,5-T και HCH στο Αμβούργο λόγω αυξημένης μόλυνσης από PCDD/PCDF στα υπολείμματα παραγωγής.

1986 Εντοπισμός διοξινών σε χαρτοπολτό και χαρτί αποβλήτων χαρτοποιίας.

1988 Η πρώτη επανεκτίμηση της Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος των Ηνωμένων Πολιτειών (US EPA) για τις διοξίνες. [20]

Το 1988, 20.000 φώκιες θανατώθηκαν στη Βαλτική θάλασσα αιτία θανάτου ήταν ο ιός Phocine distemper, η έκθεση στο PCB συνέβαλε στη μόλυνση από τον ιο και στον επακόλουθο θάνατο. Συγκεκριμένα ήταν γνωστό ότι τα ψάρια που τρέφονταν οι φώκιες μολύνθηκαν εκτενώς με PCB, γνωστά ανοσοκατασταλτικά. [19]

1991 Όρια εκπομπών PCDD/Fs για αποτεφρωτήρες αστικών αποβλήτων στη Γερμανία.

1991 Ξεκίνησε η δεύτερη επαναξιολόγηση USEPA.

1994 Σχέδιο έκθεσης USEPA για τις διοξίνες. [20]

1997 Στη Βιέννη πέντε άτομα εργαζόμενοι σε γραμματειακές θέσεις σε ινστιτούτο κλωστοϋφαντουργίας δηλητηριάστηκαν με υψηλά επίπεδα διοξινών. [19]

1998 Παγκόσμια ιδέα για παράγοντες TEF για PCDD, PCDF και PCB (WHO). [20]

1999 Στο Βέλγιο, απόσυρση προϊόντων που περιέχουν κρέας ή γαλακτοκομικά προϊόντα από ζώα που είχαν τραφεί με μολυσμένες με PCB ζωοτροφές. [19]

2001 Πρώτη ιστορική απογραφή διοξινών μιας χώρας (Ιαπωνία) και μείωση των POPs, PCDD/Fs και PCBs με τη Σύμβαση της Στοκχόλμης.

2004 Τέθηκε σε ισχύ η σύμβαση της Στοκχόλμης. [20]

2004 Δηλητηρίαση του προέδρου της Ουκρανίας Victor Yushchenko με 2,3,7,8-TCDD και απαγόρευση των PCBs από τη Σύμβαση της Στοκχόλμης.

2005 Όρια για διοξίνες και παρόμοια με διοξίνες PCB στα τρόφιμα και ζωοτροφές στην Ευρωπαϊκή Ένωση.

2005 PBDD, PBDF και βρωμιωμένου-χλωριωμένου PXDD/PXDF προτείνονται για αξιολόγηση για την έννοια TEF (WHO). [20]

2008 Όλα τα ιρλανδικά προϊόντα χοιρινού κρέατος απομακρύνθηκαν από τα διεθνή ράφια λόγω της κατάποσης αυτών των ζώων με ζωοτροφή μολυσμένη με διοξίνη. [19]

2011 Οι γερμανικές αρχές απαγόρευσαν σε 4700 φάρμες να κάνουν παραδώσεις μετά από έλεγχο παραγωγού ζωοτροφών βρέθηκαν υψηλότερα επίπεδα PCDDs από τα επιτρεπτά.

1.6 Σχηματισμός διοξίνης

Η παραγωγή διοξίνης και φουρανίου είναι ένα πολύπλοκο φαινόμενο που περιλαμβάνει πολλαπλές αντιδράσεις στερεάς και αέριας φάσης, μεταξύ ελάχιστον ποσοτήτων αντιδραστηρίων. Κατά τη θερμική καταστροφή αποβλήτων οι διοξίνες και τα φουράνια είναι γνωστό ότι δημιουργούνται μαζί με αέρια καύσης, ιπτάμενη τέφρα και σκωρία. Η υψηλή τοξικότητα αυτών των ουσιών οδήγησε τους επιστήμονες στο να τις μελετήσουν και να κατανοήσουν τον τρόπο σχηματισμού τους.

Η απόδοση PCDDs, PCDFs εξαρτάται από τη θερμοκρασία της αντίδρασης. Διοξίνη μπορεί να σχηματιστεί σε θερμοκρασίες μεταξύ 250 °C και 450 °C. Έχει παρατη-

ρηθεί ότι η μέγιστη απόδοση είναι στους 325 ^{o}C. [21] Οι διοξίνες είναι γενικά σταθερές ενώσεις μέχρι τη θερμοκρασία των 750 ^{o}C και καταστρέφονται πλήρως στους 850 ^{o}C για διάρκεια καύσης 2 sec, ή στους 1000 ^{o}C για διάρκεια καύσης 1 sec. [22] [23]

Το χλώριο απαιτείται αναμφισβήτητα για το σχηματισμό PCDD/Fs. Αυτό είναι πολύ σημαντικό καθώς όπως αναφέρθηκε προηγουμένως στη δομή των διοξινών για να σχηματιστεί διοξίνη απαιτείται χλώριο σε τουλάχιστον τέσσερις θέσεις του βενζολικού δακτυλίου. Μικρές ποσότητες χλωρίου είναι αρκετές ώστε οι αντιδράσεις χλωρίωσης να σχηματίσουν PCDD/Fs όταν υπάρχουν μεταλλικοί καταλύτες στα καυσαέρια. [21]

Η επίδραση των ειδών χλωρίου μπορεί να συνοψιστεί στο ότι η χλωρίωση των αρωματικών ενώσεων προκύπτει εύκολα παρουσία του Cl_2. Τέτοιες αντιδράσεις υποκατάστασης συμβαίνουν παρουσία ιπτάμενης τέφρας καθώς και αέριας φάσης. Χωρίς ιπτάμενη τέφρα, το Cl_2 ήταν 4 φορές πιο αποτελεσματικό από το HCl στη χλωρίωση αυτών των ενώσεων. Το αέριο χλώριο Cl_2 βρέθηκε ως ο πιο αποτελεσματικός παράγοντας χλωρίωσης. [24] Ανόργανο χλώριο όπως το χλωριούχο νάτριο αποδείχθηκε μικρή πηγή χλωρίου και αποδείχθηκε αποτελεσματικό μόνο όταν υπάρχει μικρή ποσότητα άλλων ανόργανων χλωρίων. [25]

Μια σειρά μετάλλων έχει εξεταστεί, μόνο ο χαλκός βρέθηκε να είναι αποτελεσματικός καταλύτης. Στην πραγματικότητα Mg, Zn, Fe (II), Mn, Hg (II), Cd, Ni, Sn (II) και Pb (II) δεν παρήγαγαν μετρήσιμο PCDD/F. Επίσης τα χλωριούχα είναι εξαιρετικοί καταλύτες για το σχηματισμό διοξινών χρησιμεύοντας ως αποτελεσματικοί δότες χλωρίου. [26]

Ωστόσο σύμφωνα με τους Halonen Ismo *et al*. που μελέτησαν τη καταλυτική δράση του χαλκού και του σιδήρου στο σχηματισμό PCDD/F. Οι παραπάνω έδειξαν ότι ο σχηματισμός PCDD/Fs στις επιφάνειες σωματιδίων είναι μια ταχεία διαδικασία και επιπλέον αυξάνεται έντονα, όταν ένας μεταλλικός καταλύτης προστίθεται στη ροή καυσίμου σε ένα 32-kW πιλοτικό καυστήρα. Ο σίδηρος και ο χαλκός προώθησαν το σχηματισμό PCDD/Fs πιο αποτελεσματικά. [21]

Είναι πλέον προφανές ότι ίχνη ποσοτήτων PCDD/F μπορούν να σχηματιστούν υπό κατάλληλες συνθήκες κατά τη καύση όταν υπάρχει άνθρακας, υδρογόνο και χλώριο. Ο άνθρακας που υπάρχει στην τέφρα αποτελεί μια πηγή για το σχηματισμό διοξι-

νών, ο ρυθμός της απελευθέρωσης PCDD/F είναι ανάλογη με το ρυθμό κατανάλωσης άνθρακα. Το χλώριο παρέχεται από το στερεό όπως την αποσύνθεση ενός μεταλλικού χλωριδίου, ή από τα χλωριωμένα προϊόντα ατελούς καύσης, ή το χλώριο που υπάρχει στην αέρια φάση, στην τελευταία περίπτωση, το χλώριο υπάρχει ως ατομικό Cl, μοριακό Cl_2 και HCl. [26]

Οι διοξίνες δεν παράγονται στο εμπόριο παρά μόνο σε μικρή κλίμακα για χρήση σε χημικές και τοξικολογικές έρευνες. Οι διοξίνες είναι μοναδικές μεταξύ του μεγάλου αριθμού οργανοχλωρικών ενώσεων περιβαλλοντικού ενδιαφέροντος που δεν παράγονται ποτέ σκόπιμα ως επιθυμητά εμπορικά τελικά προϊόντα. Συνήθως, οι διοξίνες παράγονται ακούσια κατά τη διάρκεια μη ελεγχόμενων χημικών αντιδράσεων που περιέχουν χλώριο και διαφόρων διεργασιών καύσης και αποτέφρωσης. [24]

Τα PCB συντίθενται συνήθως στο εμπόριο με σταδιακή χλωρίωση του διφαινυλίου. Οι καταλύτες που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνουν σίδηρο, ιώδιο και χλωρίδια αλουμινίου, κασσίτερου και αντιμόνιο. Η σύνθεση εκτελείται ως διεργασία χλωρίωσης ενός σταδίου ή σε δύο στάδια με περαιτέρω χλωρίωση υπολειμμάτων από το πρώτο στάδιο. Τα ακατέργαστα προϊόντα καθαρίζονται με αλκαλικό πλύσιμο για την απομάκρυνση του υδροχλωρίου και του χλωριούχου σιδήρου, διοχετεύεται αέρας, και μερικές φορές επίσης με απόσταξη. Ο βαθμός χλωρίωσης ελέγχεται με το χρόνο σε αντιδραστήρα. [5] Όσο αυξάνεται ο χρόνος της αντίδρασης τόσο περισσότερα χλώρια μπαίνουν στους βενζολικούς δακτυλίους αντικαθιστώντας τα υδρογόνα.

Όσον αφορά τα PCBs θεωρούνται ευρέως διαδεδομένοι ρύποι του περιβάλλοντος που προέρχονται από την μεγάλη παραγωγή και χρησιμοποίηση σε όλο τον κόσμο μεταξύ της δεκαετίας του 1930 και του 1980 ως τεχνικά μείγματα με διαφορετικό βαθμό χλωρίωσης. Από τα 209 πιθανά ομοειδή 130 παρήχθησαν σε βιομηχανική κλίμακα. Μεταξύ άλλων, η μεγαλύτερη βιομηχανική παραγωγή τους γινόταν από Mosanto, Η.Π.Α, Bayer S. A., Γερμανία και Kanegafuchi Chemical. [27]

Η παραγωγή κορυφώθηκε στις δεκαετίες 1960 και 1970, και σταμάτησε στις περισσότερες χώρες μέχρι το τέλος του 1970 ή αρχές 1980. Οι εκτιμήσεις της συνολικής αθροιστικής παγκόσμιας παραγωγής PCB δείχνουν ότι 1 έως 1,5 εκατομμύρια τόνοι (ή περισσότεροι) εμπορικών προϊόντων PCB κατασκευάστηκαν.

Λόγω των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων τα PCB, όπως μη-εύφλεκτα, χημική σταθερότητα, υψηλό σημείο βρασμού και υψηλές διηλεκτρικές σταθερές, τα PCB χρησιμοποιήθηκαν ευρέως σε διάφορες βιομηχανικές και εμπορικές ανοικτές και κλειστές εφαρμογές. Ως αποτέλεσμα της παραγωγικής διαδικασίας, τα PCB δεν χρησιμοποιήθηκαν ποτέ μεμονωμένα, αλλά ως τεχνικά προϊόντα που αποτελούνται από πολλαπλά ομοειδή. [5]

Έχουν χρησιμοποιηθεί ως διηλεκτρικά υγρά σε ηλεκτρικό εξοπλισμό όπως μετασχηματιστές, πυκνωτές (μεγάλοι βιομηχανικοί πυκνωτές, αλλά και μικροί πυκνωτές σε οικιακές ηλεκτρικές συσκευές), μεταφορά θερμότητας και υδραυλικά συστήματα και ως συστατικά σε πλαστικά σκευή. [28] Τα εμπορικά προϊόντα PCB χρησιμοποιήθηκαν γενικά ως τέτοια, άλλα μίγματα με άλλες ενώσεις παρήχθησαν επίσης για να ληφθούν οι συγκεκριμένες ιδιότητες. [5]

Είναι γνωστό ότι ίχνη επιπέδων PCDDs, PCDFs, χλωροβενζολίων, PCB και άλλων χλωριωμένων οργανικών ενώσεων μπορούν να σχηματιστούν κάθε φορά που καίγεται πηγή άνθρακα και χλώριο σε οποιαδήποτε μορφή. Είναι πλέον αποδεκτό ότι τα μη ορθο PCB μπορούν να σχηματιστούν κατά την αποτέφρωση αστικών αποβλήτων. [29]

1.7 Πηγές

Αρχικά, τα PCDD/F θεωρήθηκε ότι είχαν εντελώς ανθρωπογενής προέλευση, ξεκινώντας από τη βιομηχανική επανάσταση και σχετίζονται σε μεγάλη κλίμακα με τη χρήση ενώσεων χλωρίου. Ωστόσο τα PCDD/F προκύπτουν φυσιολογικά και έχουν εντοπιστεί σε υγρά ιζήματα της Αυστραλίας που έχουν καθοριστεί ήδη από το 1640. [30]

Τα παλαιότερα δείγματα ανθρώπινων ιστών δείχνουν χαμηλά επίπεδα διοξινών σε σχέση με τα σημερινά. Μελέτες των ιζημάτων κοντά σε βιομηχανικές περιοχές των Ηνωμένων Πολιτειών έδειξαν ότι οι διοξίνες ήταν πολύ χαμηλές μέχρι το 1920. Αυτές οι μελέτες δείχνουν αυξήσεις στις συγκεντρώσεις διοξινών από τη δεκαετία του 1920 και συνεχίστηκε έως περίπου το 1970. Εξασθένιση των συγκεντρώσεων έχει παρατηρηθεί από τότε. Αυτά τα ευρήματα μπορούν να εξηγηθούν από τις αντίστοιχες τάσεις της παραγωγής χλωροφαινόλης. Επομένως, φαίνεται ότι η παρουσία ενώσεων παρόμοιων

με διοξίνη στο περιβάλλον είναι κυρίως αποτέλεσμα ανθρωπογενών πηγών. Αυτές οι ενώσεις απελευθερώνονται στο περιβάλλον με διάφορους τρόπους και σε διάφορες ποσότητες ανάλογα με την πηγή. [31] Οι μεγαλύτερες αναγνωρίσιμες πηγές της περιβαλλοντικής απελευθέρωσης τους έχουν ομαδοποιηθεί και αναπτύσσονται αναλυτικά παρακάτω (Εικόνα 4).

Πρωταρχικές πηγές

Βιομηχανικές-χημικές διεργασίες

Εργοστάσια χαρτοπολτού και χαρτιού: Εκπομπές PCDD/F στο περιβάλλον μέσω νερού και εδάφους προκύπτουν από χαρτοπολτούς kraft και εργοστάσια χαρτιού. Επιπλέον, το PCDD/F ανιχνεύτηκε στο τελικό προϊόν (χαρτοπολτός, χαρτί) καθώς και στην ύλη χαρτοπολτού και χαρτιού. Με την προηγμένη τεχνολογία λεύκανσης μειώθηκε η μόλυνση από PCDD/F σε απόβλητα, προϊόντα και ύλη. [24]

Χημική βιομηχανία: Σχηματίζονται ως υποπροϊόντα παραγωγής χλωριωμένων ενώσεων. Μπορούν να σχηματίζονται κατά την παραγωγή και τη διάθεση των αλογονωμένων οργανικών χημικών ουσιών, όπως χλωριωμένες φαινόλες, χλωριωμένα βενζόλια, και PCB.

Οι χλωριωμένες φαινόλες, οι οποίες έχουν χρησιμοποιηθεί για διάφορες εφαρμογές φυτοφαρμάκων, μπορούν να απελευθερωθούν στο περιβάλλον από τη βιομηχανική χρήση αυτών των ενώσεων και από την διάθεση αποβλήτων από τις εγκαταστάσεις που τις παράγουν.

Η παραγωγή χλωροβενζολίων (χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη για την παραγωγή φαινόλης, ανιλίνης και διαφόρων φυτοφαρμάκων) με ορισμένες διαδικασίες μπορεί να παράγει ακούσια ενώσεις παρόμοιες με διοξίνη.

Άλλες αλογονωμένες οργανικές χημικές ουσίες που, μέσω της παρασκευής ή της απόρριψής τους, έχουν συσχετιστεί με την απελευθέρωση ενώσεων παρόμοιων με τις διοξίνες στο περιβάλλον περιλαμβάνουν πολυβινυλοχλωρίδιο, αλειφατικές χλωριωμένες ενώσεις και διάφορες βαφές, χρωστικές ουσίες και μελάνια εκτύπωσης.

Βιομηχανία μετάλλων: Υπάρχουν διάφοροι τύποι πρωτογενούς και δευτερογενούς τήξης μετάλλων και εργασίες διύλισης, συμπεριλαμβανομένης της σύντηξης σι-

δηρομεταλλεύματος, της παραγωγής χάλυβα και φούρνοι ανάκτησης παλιοσίδερων. Τέτοιες εργασίες χρησιμοποιούν τόσο σιδηρούχα όσο και μη σιδηρούχα μέταλλα. Η δευτερεύουσα τήξη και εξευγενισμός μη σιδηρούχων μετάλλων όπως αλουμίνιο, χαλκός, μόλυβδος και ψευδάργυρος μπορεί να οδηγήσει σε σχηματισμό ενώσεων παρόμοιες με διοξίνες, λόγω καύσης οργανικών αποβλήτων (π.χ. πλαστικών, χρωμάτων και διαλυτών) στα μέταλλα και χημικά που περιέχουν χλώριο (π.χ. χλωριούχο νάτριο και χλωριούχο κάλιο) που χρησιμοποιούνται στη διαδικασία τήξης. [32]

Θερμικές διεργασίες

Αποτέφρωση αποβλήτων

Αποτεφρωτήρες στερεών αστικών απόβλητών: Σε αποτεφρωτήρες αστικών (και επικίνδυνων) αποβλήτων υπάρχουν πολλαπλές συνθήκες όπου σχηματίζονται πολυχλωριωμένες διφαινζο-r-διοξίνες και φουράνια (PCDD/F). Η απελευθέρωση στο περιβάλλον γίνεται με δυο καταλυτικές διεργασίες, δηλαδή η λεγόμενη σύνθεση de novo και τη χημικά παρόμοια σύνθεση από πρόδρομες ουσίες [33].

Αποτεφρωτήρες νοσοκομειακών αποβλήτων: Στα νοσοκομειακά απόβλητα περιλαμβάνονται λοιμογόνα (μολυσματικά) απόβλητα, απορρίμματα που έχουν έρθει σε επαφή με αίμα και άλλα βιολογικά υγρά, όπως χρησιμοποιημένες γάζες, επίδεσμοι, ιατρικά εργαλεία.

Παθολογικά απόβλητα όπως ανθρώπινοι ιστοί, όργανα ή υγρά, μέρη του σώματος και μολυσμένα σφάγια ζώων. Απορρίμματα αιχμηρών αντικειμένων είναι σύριγγες, βελόνες, νυστέρια μίας χρήσης και λεπίδες κ.λπ. Χημικά απόβλητα όπως για παράδειγμα διαλύτες και αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται για εργαστηριακά παρασκευάσματα, απολυμαντικά, αποστειρωτικά και βαρέα μέταλλα που περιέχονται σε ιατρικές συσκευές (π.χ. υδράργυρος σε σπασμένα θερμόμετρα) και μπαταρίες. Φαρμακευτικά απόβλητα όπως ληγμένα, αχρησιμοποίητα και μολυσμένα φάρμακα και εμβόλια.

Κυτταροτοξικά απόβλητα λόγου χάρη απόβλητα που περιέχουν ουσίες με γενοτοξικές ιδιότητες (δηλαδή εξαιρετικά επικίνδυνες ουσίες που είναι, μεταλλαξιογόνες, τερατογόνες ή καρκινογόνες), όπως κυτταροτοξικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται στη

θεραπεία του καρκίνου. Ραδιενεργά απόβλητα όπως προϊόντα μολυσμένα από ραδιονουκλεΐδια, συμπεριλαμβανομένων ραδιενεργών διαγνωστικών υλικών ή ραδιοθεραπευτικών υλικών και τέλος μη επικίνδυνα ή γενικά απόβλητα που δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερο βιολογικό, χημικό, ραδιενεργό ή φυσικό κίνδυνο.

Η αποτέφρωση των νοσοκομειακών αποβλήτων έχει εφαρμοστεί ευρέως, αλλά η ανεπαρκής αποτέφρωση η αποτέφρωση ακατάλληλων υλικών οδηγεί στην απελευθέρωση ρύπων στον αέρα και στη δημιουργία κατάλοιπων τέφρας. Τα αποτεφρωμένα υλικά που περιέχουν ή επεξεργάζονται με χλώριο μπορούν να παράγουν διοξίνες και φουράνια. [34]

Αποτεφρωτήρες επικίνδυνων αποβλήτων: Τα επικίνδυνα απόβλητα είναι απόβλητα που έχουν σημαντικές ή δυνητικές απειλές για τη δημόσια υγεία ή το περιβάλλον παράγονται από τις βιομηχανίες.

Εμφανίζουν μία ή περισσότερες από τις θεσμοθετημένες επικίνδυνες ιδιότητες (Εκρηκτικό, Οξειδωτικό, Εύφλεκτο, Ερεθιστικό, Επιβλαβές, Τοξικό, Διαβρωτικό, Μολυσματικό, Μεταλλαξιογόνο, Οικοτοξικό, κλπ.). Περιέχουν συγκεκριμένα επικίνδυνα στοιχεία σε συγκεντρώσεις άνω του θεσμοθετημένου ορίου. [35] Η συγκεκριμένη επεξεργασία αποβλήτων απελευθερώνει τοξικά αέρια που παράγονται από την καύση υποπροϊόντων ή άλλων υλικών που μπορούν να επηρεάσουν το περιβάλλον.

Αποτεφρωτήρες λυματολάσπης: Η λάσπη προέρχεται από τη διαδικασία επεξεργασίας λυμάτων. Λόγω των φυσικοχημικών διεργασιών που εμπλέκονται στην επεξεργασία, η λάσπη τείνει να συγκεντρώνει βαρέα μέταλλα και κακώς βιοαποικοδομήσιμα ίχνη οργανικών ενώσεων καθώς και δυνητικά παθογόνους οργανισμούς (ιούς, βακτήρια κ.λπ.) που υπάρχουν στα λύματα. Ωστόσο, η λάσπη είναι πλούσια σε θρεπτικά συστατικά όπως άζωτο και φωσφόρο και περιέχει πολύτιμη οργανική ύλη που είναι χρήσιμη όταν τα εδάφη εξαντλούνται ή υπόκεινται σε διάβρωση. [36]

Η αποτέφρωση λυματολάσπης μειώνει τον όγκο του υλικού, καταστρέφει πλήρως τα παθογόνα, αποσυνθέτει τα περισσότερα οργανικά χημικά και επανακτά τη μικρή ποσότητα θερμικής αξίας που περιέχεται στη λυματολάσπη. Η υπολειμματική τέφρα είναι ένα σταθερό, σχετικά αδρανές, ανόργανο υλικό που έχει μόλις 10 έως 20% του όγκου της αρχικής λάσπης. Η αποτέφρωση απελευθερώνει επίσης διοξείδιο του άνθρακα (άλλο αέριο του θερμοκηπίου) και πιθανώς άλλους πτητικούς ρύπους όπως διοξίνες

στην ατμόσφαιρα. Η λειτουργία αποτεφρωτή απαιτεί εξελιγμένα συστήματα για την απομάκρυνση λεπτών σωματιδίων (τέφρα) και πτητικών ρύπων από τα αέρια. Αυτό καθιστά την αποτέφρωση μία από τις πιο ακριβές επιλογές για τη διάθεση λυματολάσπης. Όπως και με την υγειονομική ταφή, τα πιθανά οφέλη από την οργανική ύλη και τα φυτικά θρεπτικά συστατικά στη λάσπη λυμάτων χάνονται. [37]

Το κυριότερο πρόβλημα της αποτέφρωσης σχετίζεται με τα απαέρια της καύσης. Καθώς πολλοί από τους φορείς των μολυσματικών αποβλήτων είναι κατασκευασμένοι από πλαστικό και κυρίως από PVC, τα απαέρια της καύσης είναι πλούσια σε διοξίνες και φουράνια. [38] Μόνο οι σύγχρονοι αποτεφρωτήρες που λειτουργούν στους 850-1100°C και διαθέτουν ειδικό εξοπλισμό καθαρισμού αερίου μπορούν να συμμορφωθούν με τα διεθνή πρότυπα εκπομπών διοξινών και φουρανίων. [34]

Πηγές καύσης

Κλίβανοι τσιμέντου: Παράγονται μέσω ετερογενών αντιδράσεων στην επιφάνεια σωματιδίων, με την απευθείας χλωρίωση και οξείδωση ατόμων άκαυστου άνθρακα, με παρουσία καταλύτη, στη θερμοκρασιακή περιοχή 450 ^{o}C–200 ^{o}C (de novo synthesis). [39] Υψηλές ποσότητες διοξινών έχουν ανιχνευτεί στα απαέρια καμινάδας καθώς και στη σκόνη κλίνκερ. [40]

Καύση ξύλου: Πυρκαγίες στα δάση, σαβάνες, λιβάδια, υπολείμματα γεωργικών καλλιεργειών, συμπεριλαμβανομένου του ζαχαροκάλαμου, δηλαδή καύση σε μηβιομηχανικές εγκαταστάσεις και χωρίς ειδικό εξοπλισμό. Έχει αποδειχθεί ως σημαντική πηγή διοξινών από μια σειρά μελετών. [41] Σύμφωνα με τον European Emission Inventory, η καύση ξύλου είναι η σημαντικότερη πηγή διοξινών στον αέρα αυτή τη στιγμή.

Αλλές πηγές καύσης: Διαδικασίες κρεματορίων αποτελούν έτοιμη πηγή οργανικών υλικών και χλωρίου και συνεπώς πηγή διοξινών. [31] Εδώ περιλαμβάνονται επίσης κεραυνοί, εσκεμμένοι εμπρησμοί, πυρκαγιές κτιρίων τυχαίες αναφλέξεις (π.χ. καύση τσιγάρων, γυαλί, συγκολλητές, γραμμές μεταφοράς ισχύος) και επιτρεπόμενες αναφλέξεις για λόγους διαχείρισης. [42]

Ερευνητές από τη Σουηδία και τη Νορβηγία έχουν μελετήσει τις εκπομπές διοξινών από οχήματα diesel. Δεδομένου ότι αυτές οι μελέτες εξαρτώνται από το καύσιμο που χρησιμοποιείται σε μια συγκεκριμένη χώρα απαιτούνται περισσότερες μελέτες. Τέ-

λος η καύση άνθρακα αν και η εκπομπή διοξινών είναι αρκετά μικρότερη σε σχέση με τη καύση ξύλου [31]. Η απελευθέρωση διοξινών από τις διαδικασίες καύσης είναι κυρίως στον αέρα. [32]

Δευτερεύουσες πηγές

Πηγές Reservoir

Η επίμονη και υδρόφοβη φύση αυτών των ενώσεων τους προκαλεί να συσσωρεύονται σε εδάφη, ιζήματα, χώρους υγειονομικής ταφής, βλάστηση και οργανική ύλη. Έχουν δυνατότητα για ανακατανομή και κυκλοφορία διοξινών στο περιβάλλον. Σε αυτή τη κατηγορία οι ενώσεις διοξίνης μπορούν να αναδιανεμηθούν και να κυκλοφορήσουν στο περιβάλλον από σκόνη ή ιζήματα επαναιώρηση και μεταφορά.

Πηγές Reservoir είναι:

Βιολογικές διαδικασίες: Η δράση των μικροοργανισμών σε χλωριωμένες φαινολικές ενώσεις έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό διοξινών κάτω από ορισμένες περιβαλλοντικές συνθήκες.

Φωτοχημικές διεργασίες: Διοξίνες όπως OCDD (1,2,3,4,5,6, 7,8,9-οκταχλωροδιβενζοδιοξίνη), HPCD (1,2,3,4,5,6,7,8-επταχλωροδιβενζοδιοξίνη),ο σχηματισμός συμβαίνει από φωτολυτικές αντιδράσεις της πενταχλωροφαινόλης.

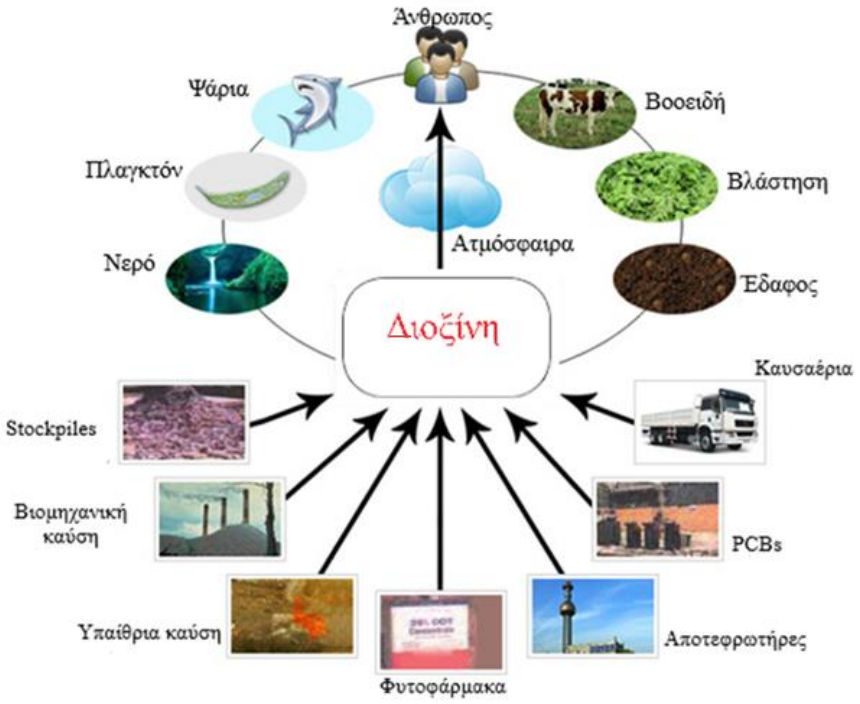
Πηγές από ατυχήματα

Τα επεισόδια της απελευθέρωσης διοξινών Seveso, Monsanto και BASF, μπορούν να θεωρηθούν ως τυχαία έκλυση διοξινών στην ατμόσφαιρα. Περαιτέρω, τα ηφαίστεια περιλαμβάνονται επίσης σε αυτήν την κατηγορία.

Διάφορες άλλες πηγές

Διάφορες άλλες πηγές περιλαμβάνουν καύση σε ρευστοποιημένη κλίνη (FBC), λέβητες, κοπή παλιοσίδερων με φλόγα οξυγόνου στους χώρους κατεδάφισης, παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας, καύση σε ρευστοποιημένη κλίνη (FBC), λέβητες, κοπή παλιοσίδερων με φλόγα οξυγόνου στους χώρους κατεδάφισης, παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας, κάψιμο PVC σε αστικές πυρκαγιές, λέβητες υγρού Kraft, εργαστηριακά απόβλητα,

καυστήρες ελαστικών, φούρνοι επανα-ενεργοποίησης άνθρακα, εγκαταστάσεις ανάκτησης υπολειμμάτων ηλεκτρικών συρμάτων κλπ. [31]



Εικόνα 4: Κύριες πηγές εκπομπής διοξινών

1.8 Τρόπος μεταφοράς στο περιβάλλον

Έδαφος

Τα PCDD/Fs έχουν χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και είναι εξαιρετικά λιπόφιλα επομένως τείνουν να χωρίζονται από την ατμόσφαιρα στο έδαφος και στη βλάστηση. Καθώς ορισμένα PCDD/Fs θεωρούνται ημιπτητικά, ιδιαίτερα τα λιγότερο χλωριωμένα ομοείδη, κάποιο μικρό μέρος των εναποτιθέμενων ενώσεων μπορεί να εισέλθει στην ατμόσφαιρα ως αποτέλεσμα της πτητικότητας τους από αυτές τις επιφάνειες ή να δεσμευτεί σε σωματίδια εδάφους του αέρα.

Ακριβώς από κάτω από την επιφάνεια του εδάφους, τα PCDD/Fs που είναι δεσμευμένα με το έδαφος δεν φαίνεται να κινούνται προς τα κάτω ή προς τα πάνω μέσω της πτητικότητας χωρίς μέσω μεταφοράς. Αυτό ισχύει ιδιαίτερα για τα τετρα- και υψη-

λότερα χλωριωμένα PCDD/Fs. Η παρουσία ενός διαλύτη όπως κάποιο έλαιο μπορεί να διευκολύνει τη διάχυτη κίνηση των ενώσεων μέσω του εδάφους.

Καθώς τα περισσότερα PCDD/Fs που προσκολλώνται στα σωματίδια του εδάφους έχουν μικρή πιθανότητα για έκλυση η εξάχνωση από το έδαφος, απομακρύνονται από τις επιφάνειες του εδάφους κυρίως από τη διάβρωση του εδάφους (άνεμος ή νερό) και απορροή στα υδάτινα συστήματα. Για τα PCDD/Fs που δεν διαβρώνονται, η ταφή είναι η κύρια τύχη τους. Χωρίς την παρουσία ενός μεταφορέα στο έδαφος, όπως μπορεί να συμβεί σε μια επικίνδυνη περιοχή αποβλήτων ή διαρροής, η μόλυνση με PCDD/Fs των υποκείμενών ρευμάτων υπόγειων υδάτων από το έδαφος δεν είναι δυνατή. Ωστόσο, μπορεί να συμβεί κάποια έκλυση μέσω του εδάφους για τα παρόμοια με διοξίνες PCB, ιδιαίτερα εάν το έδαφος έχει χαμηλή οργανική περιεκτικότητα και είναι λιγότερο πιθανό να δεσμεύσει τις ενώσεις.

Η Suzuki και οι συνεργάτες της, Sinkkonen και Paasivirta μοντελοποίησαν τον μετασχηματισμό και τη τύχη των PCDD/Fs για διάφορα περιβαλλοντικά μέσα. Τα μοντέλα αυτά εκτιμούν τις συγκεντρώσεις των ενώσεων σε σταθερή κατάσταση και σε μη σταθερή κατάσταση για νερό, έδαφος και ιζήματα και προβλέπουν περιβαλλοντικές ροές, παρόλο που τα μοντέλα στερούνται ποσοτικής και ποιοτικής ακρίβειας, δείχνουν ότι το έδαφος είναι μια σημαντική αποταμιευτική πηγή και ότι ο ρυθμός υποβάθμισης στο έδαφος και στα ιζήματα μπορεί να είναι σημαντικοί καθοριστικοί παράγοντες του περιβαλλοντικού μετασχηματισμού και της τύχης αυτών των ενώσεων. [32]

Κατά γενικό κανόνα, όσο πιο χλωριωμένο είναι το μόριο, τόσο λιγότερο υδατοδιαλυτό και πτητικό. Τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCB) απορροφούνται ελάχιστα από τα φυτά αλλά είναι ευαίσθητα στη βιοσυσσώρευση από ζώα, κυρίως στον λιπώδη ιστό και στο μητρικό γάλα. [43]

Υδάτινο περιβάλλον

Η υδατοδιαλυτότητα των διοξινών είναι πολύ μικρή, υπό αυτές τις συνθήκες αναμένεται ότι αυτές οι ενώσεις δεν μπορούν να κινηθούν ιδιαίτερα στο υδάτινο περιβάλλον και συνηθίζει να επικάθεται σε ιζήματα ποταμών, λιμνών και ωκεανών [44] και ένα μικρό μέρος αυτών των ενώσεων θα διαλυθεί στο νερό συμπεριλαμβανομένων των PCBs [32]. Ωστόσο λόγω της υψηλής τοξικότητας ορισμένων διοξινών η μεταφορά αυτών των ενώσεων σε υδάτινα συστήματα είναι σημαντική, ακόμη και σε πολύ χαμη-

λά επίπεδα. Οι συντελεστές κατανομής οκτανόλης-νερού αυτών των ενώσεων είναι επίσης εξαιρετικά υψηλοί [44].

Η ρόφηση σε αιωρούμενα σωματίδια και η επακόλουθη καθίζηση, είναι ο πιο κοινός μηχανισμός για την απομάκρυνση αυτών των ενώσεων από την επιφάνεια του νερού. Η εγκατάσταση στο ίζημα μπορεί να προκύψει εάν οι ταχύτητες ροής μειωθούν, μόλις αυτές οι ενώσεις συναναστραφούν με φορείς όπως χουμικά οξέα ή αιωρούμενα σωματίδια. Κατά συνέπεια, τα PCB βρίσκονται συνήθως σε πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις στα ιζήματα από ότι στο υπερκείμενο νερό. Πρόσφατα, μέσω λεπτομερής έρευνας κατέστη σαφής ότι υπάρχει καθαρή μεταφορά PCB από το νερό στον αέρα στις Great lakes (ΗΠΑ). Αυτοί οι συγγραφείς ισχυρίζονται ότι η εξαέρωση των PCB είναι εξίσου σημαντική με τη καθίζηση στο συνολικό ισοζύγιο μάζας λίμνης. [45]

Ατμόσφαιρα

Η ατμοσφαιρική μεταφορά είναι ένας σημαντικός μηχανισμός διασποράς διοξινών και παρόμοιων με διοξίνες ενώσεων στο περιβάλλον. Η παρουσία αυτών των ενώσεων σε απομακρυσμένες, μη βιομηχανικές περιοχές υποδηλώνει ότι συμβαίνει ατμοσφαιρική μεταφορά μεγάλων αποστάσεων των ενώσεων. Το ατμοσφαιρικό προφίλ κατανομής και μετατροπής για ένα συγκεκριμένο ομοειδές εξαρτάται από την τάση ατμών, την ατμοσφαιρική θερμοκρασία και τη συγκέντρωση σωματιδίων στον αέρα.

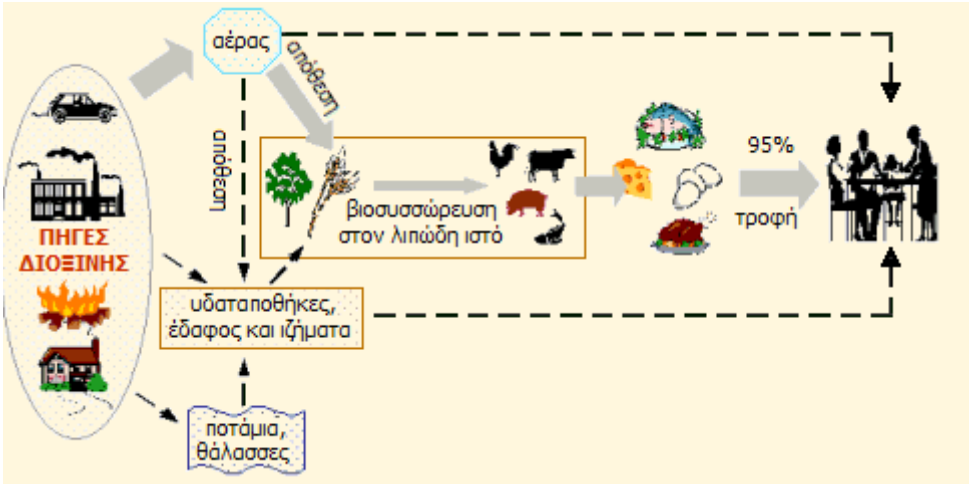
Για ένα συγκεκριμένο ομοειδές όσο λιγότερο χλωριωμένο είναι (δηλαδή, όσο χαμηλότερη είναι η τάση ατμών), όσο πιο ζεστή είναι η ατμοσφαιρική θερμοκρασία, και όσο λιγότερα σωματίδια υπάρχουν, τόσο μεγαλύτερο είναι το κλάσμα που θα βρεθεί στη φάση ατμών. Οι περισσότερο χλωριωμένες διοξίνες και παρόμοιες με διοξίνες ενώσεις δηλαδή (δηλαδή πενταχλωριωμένες η παραπάνω) συνδέονται σχεδόν αποκλειστικά με τη σωματιδιακή φάση.

Λαμβάνοντας υπόψη ότι το TCDD, το οποίο έχει ενδιάμεση τάση ατμών, συνδέεται τόσο με τη αέρια όσο και με τη σωματιδιακή φάση. Ένα ποσοστό των ενώσεων αυτών στη σωματιδιακή φάση φαίνεται να φτάνει σε ισορροπία μεταξύ της φάση ατμού και της σωματιδιακή φάση, ενώ ένα μέρος παραμένει αμετάκλητα συνδεδεμένο με τα σωματίδια. Τα παρόμοια με διοξίνες PCB έχουν μεγαλύτερη πτητικότητα από άλλες διοξίνες και παρόμοιες με διοξίνες ενώσεις με παρόμοια χλωρίωση και συνδέονται στε-

νότερα με τη φάση ατμών. Όπως και οι διοξίνες φαίνεται να ταξιδεύουν μεγάλες αποστάσεις στην ατμόσφαιρα.

Οι διοξίνες και παρόμοιες με διοξίνες ενώσεις απομακρύνονται από την ατμόσφαιρα είτε με ξηρή η υγρή εναπόθεση. Η ξηρή εναπόθεση συμβαίνει τόσο για τις ενώσεις αέριας και σωματιδιακής φάσης. Τα περισσότερο χλωριωμένες ενώσεις που προσροφώνται σε ατμοσφαιρικά σωματίδια απομακρύνονται κυρίως από τη βαρύτητα στην επιφάνεια του εδάφους, βλάστησης ή του νερού. Τα λιγότερο χλωριωμένα ομοειδή στην αέρια και σωματιδιακή φάση απομακρύνονται με ατμοσφαιρική αναταραχή (ή αστάθεια) και διάχυση. Αυτές οι ενώσεις στη αέρια φάση γενικά εναποτίθενται απευθείας στη βλάστηση ή στο έδαφος (φύλλα και κατάλοιπα). Η μεγαλύτερη πτητικότητα των PCB σημαίνει ότι μπορούν να εξατμιστούν από το έδαφος και το νερό, ενεργώντας ως πηγή ατμοσφαιρικής εισροής, όπως αποδεικνύεται στις Great Lakes.

Οι διοξίνες και παρόμοιες με διοξίνες ενώσεις μπορούν να εναποτίθενται στο έδαφος, το νερό ή τη βλάστηση μέσω υγρής εναπόθεσης, είτε αιωρούμενα στο νερό, είτε συνδεδεμένα με σωματίδια καθίζησης. Έχουν μετρηθεί στις βροχοπτώσεις στις περισσότερες περιοχές. Η υγρή εναπόθεση είναι η πιο αποτελεσματική διαδικασία απομάκρυνσης για δεσμευμένα σωματίδια αυτών των ενώσεων από την ατμόσφαιρα. [32]



Εικόνα 5: Σχηματική αναπαράσταση της απελευθέρωσης διοξινών από πηγές εκπομπής, η μεταφορά στο περιβάλλον και η κατάληξη και συσσώρευση των διοξινών στην τροφική αλυσίδα και τελικά στον άνθρωπο

1.9 Έκφραση τοξικότητας των διοξινών

1.9.1 Συντελεστής Τοξικής Ισοδυναμίας (TEF)

Κάθε ομοειδής με τις διοξίνες ή τα DL-PCB ουσία εμφανίζει διαφορετικό επίπεδο τοξικότητας. Για να καταστεί δυνατός ο υπολογισμός της συνολικής τοξικότητας των διαφόρων αυτών ομοειδών ουσιών, χρησιμοποιήθηκαν οι συντελεστές τοξικής ισοδυναμίας (TEF), ώστε να διευκολυνθούν η αξιολόγηση της επικινδυνότητας και ο ρυθμιστικός έλεγχος. Κατά συνέπεια, τα αναλυτικά αποτελέσματα που αφορούν όλες τις μεμονωμένες ομοειδείς ουσίες της ομάδας των διοξινών και της ομάδας των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB εκφράζονται με βάση μια μετρήσιμη μονάδα, τη συγκέντρωση τοξικού ισοδύναμου TCDD (TEQ). [46]

Προς το παρόν, υπάρχουν επαρκή αποδεικτικά στοιχεία οτι υπάρχει ένας κοινός μηχανισμός για αυτές τις ενώσεις (PCDD, PCDF και μείγματα PCB), που πραγματοποιείται μέσω του Αρυλικού υδρογονανθρακικού υποδοχέα (AhR) ως αρχικό βήμα [47], ο παράγοντας τοξικής ισοδυναμίας (TEF) χρησιμοποιείται υποθέτοντας ότι οι επιδράσεις είναι συσωρευτικές και ενεργούν μέσω ενός κοινού μηχανισμού για την πρόκληση τοξικότητας. Το σύστημα TEF ξεκίνησε για τις διοξίνες και τα φουράνια το 1998 από το NATO/CCMS. Υιοθετήθηκε διεθνώς και ορίσθηκε ως International-TEFs (I-TEFs). Πολλά από τα PCDDs και PCDFs και κάποια από τα PCBs είναι λιγότερο ισχυρά από το TCDD αλλά διαφέρουν σημαντικά στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις τους. Σε κάθε ομοειδές μπορεί να ανατεθεί μια τιμή ισχύος (potency value) σε σχέση με το TCDD (TEF).

Στις αρχές του 1990, ο WHO πρόσθεσε TEF για τα PCBs. Οι 7 συγγενείς διοξίνες, τα 10 συγγενή φουράνια (όλα χλωριωμένα τουλάχιστον στις 2,3,7,8 θέσεις) και τα 12 PCBs που επιδεικνύουν παρόμοια με διοξίνες δραστικότητα έχουν βαθμολογηθεί με TEFs. Επομένως η τοξικότητα των PCDDs, PCDFs και ορισμένων PCBs μπορεί να συγκριθεί (Πίνακας 1). Το 1998 και 2005 οι ειδικοί εμπειρογνώμονές του WHO συμπλήρωσαν με κοινή συναίνεση TEF εκτιμήσεις κινδύνου για τους ανθρώπους και την άγρια

ζωή [31]. Τα TEFs που έχουν καθιερωθεί από διεθνείς συμφωνίες ποικίλουν από 1 έως και 0,0001.

Πίνακας 1: Τιμές TEF των τοξικότερων διοξινών, φουρανίων και πολυχλωριωμένων διφαινυλίων

Ομοειδής ουσία	**Τιμή TEF**	**Ομοειδής ουσία**	**Τιμή TEF**
Διβενζο-παρα-διοξίνες (PCDD)		*Παρόμοια με τις διοξίνες PCB* *Μη-ορθο PCB + Μονο-ορθο PCB*	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	Μη-ορθο-PCB	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB169	0,03
OCDD	0,0003		
Διβενζοφουράνια (PCDF)		Μονο-ορθο-PCB	

2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 114	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	PCB 118	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB156	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB189	0,00003
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		

Συντομογραφίες που χρησιμοποιήθηκαν: “T’’ = τετρα- ’’Pe’’ = πεντα- ’’Hx’’ = εξα- ’’Hp’’ = επτα- ’’O’’ = οκτα- ’’CDD’’ = χλωροδιβενζοδιοξίνη ’’CDF’’ = χλωροδιβενζο- φουράνιο ’’CB’’ = χλωροδιφαινύλιο

Πηγή: Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1259/2011

1.9.2 Συντελεστής ισοδύναμου τοξικότητας (TEQ)

Η τιμή του TEF σε συνδυασμό με δεδομένα χημικών καταλοίπων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό Συγκέντρωση Ισοδύναμου Τοξικότητας (TEQ) σε διάφορα περιβαλλοντολογικά δείγματα συμπεριλαμβανομένου του ζωικού ιστού, εδάφους, ιζημάτων και νερού. [47] Όταν το TEF πολλαπλασιάζεται με το επίπεδο συγκέντρωσης του ομοειδούς, ισοδυναμεί με τη Συγκέντρωση Ισοδύναμου Τοξικότητας (TEQs). [46]

Η τοξικότητα των διοξινών εκφράζεται ως Συγκέντρωση Ισοδύναμου Τοξικότητας (TEQs) όπου το πιο τοξικό ομοειδές είναι το TCDD και βαθμολογείται ως 1.0 και

τα λιγότερο τοξικά συμπαράγωγα αποτελούν κλάσματα αυτού όπως φαίνεται στον Πίνακα 2. [31]

Τα ομοεπίπεδα πολυχλωριωμένα διφαινίλια (PCBs) έχουν μικρότερη ισχύ, ωστόσο οι συγκεντρώσεις τους είναι συχνά πολύ υψηλότερες από τις συγκεντρώσεις του TCDD, έτσι η συγκριτική συμβολή τους στο συνολικό TEQ είναι ενδεχομένως αρκετά πιο μεγάλη.

Η συγκέντρωση TEQ σε ιζήματα υπολογίζετε με τη χρήση της ακόλουθης εξίσωσης: [47]

$$\mathrm{TEQ} = \sum_{n_1}(\mathrm{PCDD}_i \times \mathrm{TEF}_i) + \sum_{n_2}(\mathrm{PCDDF}_i \times \mathrm{TEF}_i) + \sum_{n_3}(\mathrm{PCB}_i \times \mathrm{TEF}_i)$$

Για να ληφθεί η TEQs η μάζα κάθε χημικής ουσίας σε ένα μείγμα πολλαπλασιάζεται με το TEF του και έπειτα προστίθεται για να δώσουν το συνολικό TEQ του μείγματος. Αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μέτρο της συνολικής τοξικότητας του μείγματος ενώσεων παρόμοιων με διοξίνες.

Πίνακας 2: Μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα TEQ PCDD/Fs, TEQ PCBs και Indicator PCBs για τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα βοοειδή, πρόβατα, πουλερικά και χοίροι, αυγά και τρόφιμα για βρέφη και μικρά παιδιά

	Μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα		
Τρόφιμα	Άθροισμα διοξινών (WHO-PCDD/F-TEQ)	Άθροισμα διοξινών και παρόμοιων με διοξίνες PCB (WHO-PCDD/F-TEQ)	Άθροισμα των PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 και PCB 180 (ICES-6)

Κρέας και προϊόντα με βάση το κρέας (εξαιρουμένων των βρώσιμων εντοσθίων) των ακόλουθων ζώων:			
- Βοοειδή και πρόβατα	2,5 pg/g λίπους	4,0 pg/g λίπους	40 ng/g λίπους
- Πουλερικά	1,75pg/g λίπους	3,0 pg/g λίπους	40 ng/g λίπους
- Χοίροι	1,0 pg/g λίπους	1,25 pg/g λίπους	40 ng/g λίπους
Λίπος των ακόλουθων ζωών :			
- Βοοειδή και πρόβατα	2,5 pg/g λίπους	4,0 pg/g λίπους	40 ng/g λίπους
- Πουλερικά	1,75 pg/g λίπους	3,0 pg/g λίπους	40 ng/g λίπους
- Χοίροι	1,0 pg/g λίπους	1,25 pg/g λίπους	40 ng/g λίπους
Αβγά κότας και προϊόντα με βάση τα αβγά	2,5 pg/g λίπους	5,0 pg/g λίπους	40 pg/g λίπους
Νωπό γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα. Συμπεριλαμβανομένων των λι-	2,5 pg/g λίπους	5,5 pg/g λίπους	40 pg/g λίπους

παρών ουσιών του βουτύ-ρου			
Τρόφιμα για βρέφη και μικρά παιδία	0,1 pg/g υγρού βάρους	0,2 pg/g υγρού βάρους	1,0 ng/g υγρού βάρους

Πηγή: Κανονισμό (ΕΕ) αριθ. 1259/2011

Η έννοια του TEF/TEQs έχει αναπτυχθεί για να διευκολυνθεί η αξιολόγηση του κινδύνου και η ρύθμιση του ελέγχου. Ενώ το αρχικό και τωρινό TEF ισχύει μόνο για τις διοξίνες και τις παρόμοιες με διοξίνες ενώσεις, η έννοια μπορεί θεωρητικά να εφαρμοστεί σε οποιαδήποτε ομάδα χημικών ουσιών ικανοποιούν τα εκτεταμένα παρόμοια κριτήρια που παρουσιάζουν οι διοξίνες, κυρίως ο βασικός μηχανισμός δράσης είναι κοινός σε όλη την ομάδα. Μέχρι στιγμής, μόνο οι διοξίνες είχαν τόσο υψηλό βαθμό ένδειξης τοξικολογικής ομοιότητας. [48]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΔΙΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΠΟΛΥΧΛΩΡΙΩΜΕΝΩΝ ΔΙΦΑΙΝΥΛΙΩΝ

2.1 Μεταφορά στις τροφικές αλυσίδες

Η έρευνα σχετικά με τη μόλυνση των ζωοτροφών και της τροφικής αλυσίδας που ξεκίνησε στη δεκαετία του 1960, αλλά τα προβλήματα που αφορούν τις διοξίνες και τα PCB εξακολουθούν μεχρι και σήμερα. Αυτοί οι ρύποι εισέρχονται στην τροφική αλυσίδα σε διάφορα στάδια της παραγωγής τροφίμων, συχνά ξεκινώντας από το επίπεδο γεωργικής εκμετάλλευσης, μέσω άμεσων και έμμεσων πορειών όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.

Αυτές οι ενώσεις εισέρχονται στο περιβάλλον από βιομηχανικές και μη βιομηχανικές πηγές. Καθώς είναι ημιπτητικές, μεταφέρονται και αποθηκεύονται μέσω του αέρα σε περιβαλλοντικούς υποδοχείς όπως έδαφος και ιζήματα μεταφέρονται επίσης και επικάθονται σε κτήρια που χρησιμοποιούνται για ζώα, σε ζωοτροφές, κτηνοτροφικά ψυχανθή, λαχανικά, φρούτα και σιτηρά που καταναλώνονται από ζώα τα οποία με τη σειρά τους είναι πηγές τροφής για τον άνθρωπο.

Κύρια οδός εισροής των διοξινών στη τροφική αλυσίδα είναι η ατμοσφαιρική μεταφορά των διοξινών στα φυτά στις επιφάνειες εδάφους και νερού και επακόλουθη κατάποση αυτής της μολυσμένης βλάστησης και του εδάφους από ζώα που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση. Η ατμοσφαιρική μεταφορά PCB στο περιβάλλον είναι σχεδόν η ίδια με εκείνη των PCDD/Fs. [49]

Οι περισσότεροι από αυτούς τους POP που εναποτίθενται σε επιφανειακά νερά προσροφώνται σε εναιωρήματα ιζημάτων και μόλις προσδεθούν με το έδαφος και τα ιζήματα, αυτές οι χημικές ουσίες παραμένουν σταθερές, εκτός από τη μεταφορά όγκων λόγω διάβρωσης του εδάφους, πλημμύρων ή βυθοκόρησης. Έτσι η κατάποση αυτών των ενώσεων από ζώα έχει ως αποτέλεσμα τη βιοσυσσώρευση και βιομεγέθυνση σε υψηλότερα επίπεδα της τροφικής αλυσίδας. [50]

Τα επίπεδα διοξίνης στους ιστούς των ζώων που προκύπτουν από τη βιοσυσσώρευση αυτών των ενώσεων είναι γνωστά ως βασικά επίπεδα. Τα χερσαία ζώα πιστεύεται

ότι συσσωρεύουν επίπεδα διοξινών κυρίως με τη κατάποση μολυσμένης βλάστησης και εδάφους. Θα προκύψει μόλυνση πάνω από το βασικό επίπεδο όταν τα ζώα τρέφονται με προϊόντα με αυξημένες συγκεντρώσεις διοξινών και PCB ή βοσκή σε μολυσμένο έδαφος.

Εκτός από την ατμοσφαιρική εναπόθεση άλλες πηγές διοξινών είναι τα απόβλητα, δομικά υλικά που περιέχουν ιπτάμενη τέφρα, την εφαρμογή της λυματολάσπης ως λίπασμα, καθώς και διαρροές ή διάβρωση από κοντινές μολυσμένες περιοχές. Αυγά που παράγονται σε εξωτερικούς χώρους συχνά περιέχουν υψηλά επίπεδα OCDD, υποδεικνύοντας ότι η μόλυνση του εδάφους ευθύνεται για το πρόβλημα. [49]

Διοξίνες μπορούν να εισέλθουν στα υδάτινα οικοσυστήματα μέσω άμεσης απόρριψης τους στο νερό, με εναπόθεση στο έδαφος και σε λεκάνες απορροής όπου στη συνέχεια καταλήγουν σε ένα κεντρικό σύστημα. Αυτό το κεντρικό σύστημα μπορεί να είναι ένα ποτάμι που καταλήγει στη θάλασσα, ένας χείμαρρος ή μία λίμνη, σε ένα κλειστό σύστημα, στην οποία συγκεντρώνεται το νερό και εξατμίζεται ή απορροφάται από το έδαφος.

Οι υδρόβιοι οργανισμοί αποθηκεύουν αυτές τις ενώσεις μέσω άμεσης επαφής με το νερό, με αιωρούμενα σωματίδια και ιζήματα στον πυθμένα και μέσω της κατανάλωσης άλλων υδρόβιων οργανισμών. Οι διοξίνες μπορούν να εισέλθουν στον ιστό υδρόβιων οργανισμών και να συγκεντρωθούν σε εμπορικά δημοφιλή ψάρια και θαλασσινά. Η άμεση έκθεση στον άνθρωπο συμβαίνει μέσω της κατανάλωσης ψαριών ή οστρακοειδών που περιέχουν αυξημένα επίπεδα διοξινών. [13]

Δεδομένου ότι η διοξίνη είναι υδρόφοβη και λιπόφιλη, στο νερό απορροφάται εύκολα από τους υδρόβιους οργανισμούς και συγκεντρώνεται στα ψάρια καθώς ανεβαίνει στην τροφική αλυσίδα από τα ψάρια και φτάνει τελικά στον άνθρωπο. Για παράδειγμα, η συγκέντρωση διοξίνης στα ψάρια είναι 100.000 φορές υψηλότερη από εκείνη στο περιβάλλον. [45]

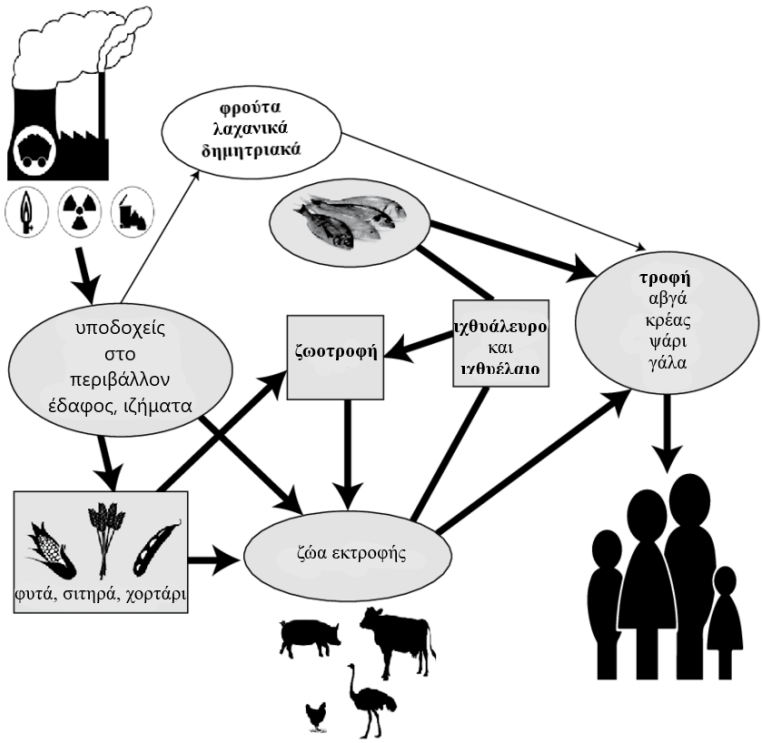
Μελέτες στα γαλακτοπαραγωγικά ζώα δείχνουν ότι ο αέρας και το νερό είναι αμελητέες πηγές διοξινών. Έτσι, τόσο τα χερσαία όσο και τα υδρόβια ζώα μπορεί να εκτεθούν σε διοξίνες κυρίως μέσω του εδάφους και της διατροφής τους.

Στις έμμεσες πηγές έκθεσης σε διοξίνες που οδηγούν σε μόλυνση φυτικών και ζωικών προϊόντων που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ζώων και τη παραγωγή [13] ζωοτροφών (σανός, πολτός τεύτλων) ενδέχεται να μολυνθούν κατά τη διάρκεια ακατάλλη-

λων βιομηχανιών ή εγχώριες διαδικασίες άμεσης ξήρανσης, καθώς και από συστατικά/πρόσθετα ζωοτροφών που παράγονται υπό ακατάλληλες συνθήκες. [49] Διαπιστώθηκε επίσης ότι ιχνοστοιχεία που χρησιμοποιούνται σε ζωοτροφές όπως το οξείδιο του ψευδαργύρου μπορεί να είναι μια άλλη πηγή PCDD/Fs (προκάλεσε σοβαρό ατύχημα στη Χιλή το 2008, το μολυσμένο συστατικό ήταν αποτέλεσμα ανακυκλωμένου ψευδαργύρου). [51]

Τα υποπροϊόντα υδρόβιων οργανισμών μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ζωοτροφές. Οι ζωοτροφές μπορεί να περιλαμβάνουν δημητριακά, χορτονομές και ζωικά υποπροϊόντα. Αυτές οι τροφές μπορούν στη συνέχεια να τροφοδοτηθούν σε άλλα χερσαία και υδρόβια ζώα, συμβάλλοντας ενδεχομένως στο φορτίο διοξινών τους. Τα χερσαία και υδρόβια ζώα χρησιμεύουν για την παραγωγή κρέατος, γαλακτοκομικών προϊόντων, αυγών και ψαριών για κατανάλωση από τον άνθρωπο και είναι επομένως η κύρια οδός εισαγωγής διοξινών στον άνθρωπο. [13]

Λόγω των παραπάνω φυσικοχημικών της ιδιοτήτων συγκεντρώνεται στους λιπώδεις ιστούς των ζώων και στη συνέχεια μέσω της τροφής σε αυτούς των ανθρώπων. Όσο υψηλότερο είναι ένα ζώο στην τροφική αλυσίδα, τόσο υψηλότερη είναι η συγκέντρωση των διοξινών. [52]



Σχήμα 1: Άμεσες και έμμεσες πορείες μετάδοσης διοξινών στην τροφική αλυσίδα **[49]**

2.2 Ανθρώπινη έκθεση

Οι άνθρωποι εκτίθενται στις διοξίνες και τα PCBs είτε μέσω έκθεσης σε χώρους εργασίας είτε έκθεση λόγω ατυχημάτων ή έκθεση μέσα από το περιβάλλον. Τα τελευταία χρόνια αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί προκειμένου να εκτιμηθεί η ανθρώπινη έκθεση στις διοξίνες και η συμβολή της διαφορετικής πορείας τους στην επιβάρυνση του σώματος. Ενώ δείγματα από ανθρώπους που έχουν εκτεθεί στο παρελθόν δείχνουν παρόμοια πορεία των ομοειδών. Τα άτομα που εκτίθενται στο χώρο εργασίας ή από ατυχήματα μολύνονται ως επί το πλείστον από τα PCDDs/PCDFs ομοείδη που είναι χαρακτηριστικές των αντίστοιχων πηγών μόλυνσης. Υψηλότερα ποσοστά διοξινών έχουν εκτιμηθεί σε πληθυσμούς που κατοικούν κοντά σε βιομηχανικές περιοχές.

Η έκθεση του ανθρώπου στις διοξίνες είναι πιθανή μέσω:

- εισπνοή αέρα και κατάποση σωματιδίων από τον αέρα
- κατάποση μολυσμένου εδάφους
- απορρόφηση μέσω δέρματος
- κατανάλωση τροφής

Οι τρεις πρώτες πορείες συνήθως συνεισφέρουν λιγότερο από 10% στη συνολική ανεκτή ημερήσια πρόσληψη διοξινών (TDI) ενώ περισσότερο από το 90% της έκθεσης του ανθρώπου στη διοξίνη προέρχεται από τη τροφή. Περίπου το 90% προέρχονται από τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Τα λιπαρά τρόφιμα όπως το κρέας, τα πουλερικά, τα θαλασσινά, το γάλα, το αυγό και τα προϊόντα τους είναι οι κύριες διατροφικές πηγές διοξινών. Όπως φαίνεται για τον άνθρωπο ή επιβάρυνση των ζώων με διοξίνη (και ως εκ τούτου η μόλυνση των τροφίμων ζωικής προέλευσης) προέρχεται κυρίως από τη μόλυνση των ζωοτροφών. Επομένως, οι ζωοτροφές έχουν ιδιαίτερη σημασία για τη μεταφορά των διοξινών στην ανθρώπινη τροφική αλυσίδα όπως αναφέρθηκε προηγουμένως.

Λόγω των λιπόφιλων ιδιοτήτων των διοξινών και τη γνωστή συσσώρευσή τους στην τροφική αλυσίδα, δείγματα τροφίμων ζωικής προέλευσης έχουν ιδιαίτερη σημασία για την εκτίμηση επικινδυνότητας της ανθρώπινης έκθεσης. Ενώ συνήθως δείγματα φυτικής προέλευσης περιέχουν επίπεδα κοντά στο ανεκτό όριο ανίχνευσης, όλα τα δείγματα ζωικής προέλευσης δείχνουν ένα σύνηθες μοτίβο PCDDs και PCDFs. Κυρίαρχα ομοειδή

είναι εκείνα με υποκατάσταση 2,3,7,8-χλωρίου που ανήκουν στις τοξικές ενώσεις διοξίνης. [53]

Η έκταση της μόλυνσης μπορεί να ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό ανάλογα με την προέλευση του τροφίμου. Κρέας, αυγά, γάλα, ψάρια εκτροφείου και άλλα τρόφιμα είναι πιθανό να είναι μολυσμένα άνω των επιτρεπτών επίπεδών από διοξίνες. Αυτή η μόλυνση μπορεί να οφείλεται σε υψηλό επίπεδο τοπικής περιβαλλοντικής μόλυνσης από έναν τοπικό αποτεφρωτήρα αποβλήτων για παράδειγμα. [54, 53] Μόλις οι διοξίνες εισέλθουν στο σώμα, έχουν μεγάλο χρονικό διάστημα ζωής λόγω της χημικής τους σταθερότητας και της ικανότητάς τους να απορροφώνται από το λιπώδη ιστό, όπου στη συνέχεια αποθηκεύονται στο σώμα. [52]

Η έκθεση σε διοξίνες εξαρτάται βέβαια και από τις ιδιαίτερες διατροφικές συνήθειες ενός πληθυσμού για παράδειγμα οι Ινουίτ (κατοικούν στο Νούναβικ, βόρειο Κεμπέκ) το διατροφολόγιο τους αποτελείται από διαφορά είδη θαλάσσιων θηλαστικών που τοποθετούνται σε υψηλά επίπεδα της τροφικής αλυσίδας. Κατά συνέπεια οι Ινουίτ εκτίθενται σε υψηλές δόσεις διοξινών και άλλων οργανοχλωριδίων. Η συγκέντρωση σε ενήλικες Ινουίτ και των δύο φύλων είναι τουλάχιστον δύο φορές μεγαλύτερη από εκείνη των τυπικών ενηλίκων από το νότιο Κεμπέκ. [55]

Ίχνη διοξινών έχουν βρεθεί σε μητρικό γάλα και μεταδίδονται στα νεογνά μέσω του θηλασμού. Τα επίπεδα διοξίνης του νεογνού στη γέννηση είναι συνήθως χαμηλότερα από εκείνα που έχουν θηλάσει. Λόγω των χημικών τους ιδιοτήτων, αυτές οι ενώσεις διασχίζουν εύκολα τον πλακούντα, από τη μητέρα προς το έμβρυο. [56] Πειραματικές και επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι το αρχικό στάδιο της ζωής είναι πιο ευαίσθητο για τις επιδράσεις των διοξινών και των PCB που μοιάζουν με διοξίνες (DL). Επομένως, μεταφορά μέσω του πλακούντα και η πρόσληψη μέσω μητρικού γάλακτος έχει τοξικολογική σημασία. [57]

Μελετώντας τη συσσώρευση ενώσεων που μοιάζουν με διοξίνες στον άνθρωπο με την πάροδο του χρόνου, η Patandin και οι συνεργάτες της έδειξαν ότι 6 μήνες θηλασμού στη διάρκεια των 25 πρώτων χρόνων ζωής θα μπορούσαν να συνεισφέρουν στο 12% συνολικής δόσης αυτών των ενώσεων κατά τη διάρκεια αυτών των 25 χρονών για τους άνδρες και 14% για τις γυναίκες. Για μια διάρκεια ζωής 70 ετών, τα άτομα που είχαν θηλάσει είχαν μια συσσωρευμένη δόση 3-18% υψηλότερη από τα άτομα που δεν είχαν θηλάσει.

Υψηλότερα επίπεδα TCDD ανιχνεύτηκαν σε θηλάζοντα βρέφη σε σύγκριση με μη-θηλάζοντα. Κάποιοι επιστήμονες υποστηρίζουν ότι απορρόφηση μέχρι και 95% είναι δυνατή για το TCDD μέσω του θηλασμού. Ωστόσο, υπάρχουν ενδείξεις ότι η απορρόφηση είναι χαμηλότερη καθώς ο βαθμός χλωρίωσης αυξάνεται, ιδιαίτερα για το υψηλότερα χλωριωμένα ομοείδη, οκταχλωροδιβενζο-π-διοξίνη (OCDD), με μια απορρόφηση που μετράται μεταξύ 2% και 15%. Παρόλο όμως που οι αρχικές επιβαρύνσεις του οργανισμού ήταν σημαντικές αργότερα μειώθηκαν ως αποτέλεσμα της αύξησης του σωματικού βάρους του βρέφους, αποβολή των καταλοίπων, και μείωση υπολειμμάτων TCDD στο μητρικό γάλα. [58] Ο θηλασμός συνεχίζει ωστόσο να έχει πολλές θετικές πτυχές και φαίνεται ότι τα θετικά αποτελέσματα που σχετίζονται με το θηλασμό υπερτερούν από τα αρνητικά γι' αυτό συνεχίζει να συνίσταται. [56]

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι γενικά τα επίπεδα πρόσληψης έχουν μειωθεί τις τελευταίες δεκαετίες, λόγω διαφόρων μέτρων για τον έλεγχο των κύριων πηγών. Αυτή η μειωμένη πρόσληψη αντικατοπτρίζεται επίσης στα επίπεδα διοξινών που εντοπίστηκαν στο μητρικό γάλα, τα οποία παρουσίασαν επίσης σημαντική μείωση στις διάφορες χώρες. [59]

Δεδομένου ότι σχηματίζονται διοξίνες κατά τη λεύκανση χαρτοπολτού με χλώριο, υπάρχει πιθανότητα να είναι παρόν σε προϊόντα χαρτιού που έχουν λευκανθεί με χλώριο. Έχει επίσης αναφερθεί μετανάστευση χαμηλών επιπέδων διοξινών από λευκασμένα χαρτοκιβώτια γάλακτος στο πλήρες γάλα. [60]

2.3 Επιπτώσεις της συσσώρευσης διοξινών και πολυχλωριωμένων διφαινυλίων

2.3.1 Επιπτώσεις στον άνθρωπο

Οι επιπτώσεις στην ανθρωπινή υγεία έχουν εκτιμηθεί μέσω ατυχημάτων που έχουν συμβεί σε ολόκληρους πληθυσμούς, σε εργαζόμενους που εκτίθενται μέσα από το χώρο εργασίας καθώς και σε επιστήμονες που εκτέθηκαν στη διάρκεια μελετών των ουσιών αυ-

τών. Οι περισσότερες πληροφορίες προέρχονται από μελέτες που έχουν γίνει σε εργαστηριακά ζώα.

Όλοι ανεξαιρέτως οι άνθρωποι διαθέτουν διοξίνες στον οργανισμό τους, διαφέρουν ωστόσο ως προς την ευαισθησία τους στις διοξίνες κάποιοι παράγοντες μεταξύ πολλών είναι το φύλο, το στάδιο της ανάπτυξης και η ποσότητα της έκθεσης. Οι άνθρωποι μεταβολίζουν τις διοξίνες αργά, όπως αποδεικνύεται από τον εκτιμώμενο χρόνο ημιζωής TCDD στα 5,8 έως 14,1 έτη. [61] Ενώ τα PCDD μπορεί να έχουν χρόνο ημιζωής έως και 50 χρόνια. [62]

Το 2,3,7,8-TCDD είναι το πιο καλά μελετημένο συμπαράγωγο παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τοξικότητα και έχει ταξινομηθεί από τον IARC το 2015 στην Κατηγορία 1 ως αποδεδειγμένο καρκινογόνο για τον άνθρωπο. Τα υπόλοιπα 7 συμπαράγωγα της PCDD, έχουν ταξινομηθεί από τον IARC στην Κατηγορία 3, δείχνοντας ανεπαρκή αποδεικτικά στοιχεία καρκινογένεσης στον άνθρωπο. Τα 10 τοξικά συμπαράγωγα του PCDF έχουν ταξινομηθεί στη Κατηγορία 1, καθώς και τα παρόμοια με διοξίνες PCBs αναβαθμιστήκαν πρόσφατα από την Κατηγορία 2B που είχαν καταταγεί στη αρχή λόγω ανεπαρκών αποδεικτικών στοιχείων για τον άνθρωπο αλλά επαρκών για πειραματόζωα, δηλαδή πιθανότατα καρκινογόνα για τον άνθρωπο στην Κατηγορία 1. [63]

Η χρόνια δηλητηρίαση αποτελείται από έκθεση σε χαμηλά επίπεδα για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Η οξεία δηλητηρίαση αποτελείται από υψηλές δόσεις διοξίνης για μικρό χρονικό διάστημα οδηγεί στην εμφάνιση μιας δερματοπάθειας που ονομάζεται χλωρική ακμή, τα συμπτώματα μπορούν να εμφανιστούν αμέσως μετά την έκθεση δηλαδή μέσα σε εβδομάδες ή μήνες μετά την έκθεση και ανήκει στα πρώιμα συμπτώματα. Η χλωρική ακμή (chloracne) είναι ακμή που χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση μελανών εξανθημάτων και κύστεων, εμφανίζεται στο πρόσωπο και στους ώμους. Η νόσος αντιμετωπίζεται με αντιβιοτικά και τα σημάδια της συνήθως εξαφανίζονται μέσα σε δύο χρόνια και εφόσον διακοπεί η έκθεση του οργανισμού στις ενώσεις αυτές. [64]

Άλλα πρώιμα συμπτώματα ανήκουν επίσης ψυχικές διαταραχές (κατάθλιψη, απάθεια, κόπωση), απώλεια βάρους, ανορεξία, ασκίτης, συχνή και μακροχρόνια φλεγμονή της αναπνευστικής οδού, υποχρωμική αναιμία-διαταραχές ερυθροκυττάρων, επιδράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα (ευαισθησία σε λοιμώξεις-ανοσοκαταστολή), αιμορραγία από το πεπτικό σύστημα, διαταραχές στη θρομβοποίηση και τη σύνθεση ινωδογόνου, διαταρα-

χή στον εμμηνορροϊκό κύκλο, υψηλή θνησιμότητα βρεφών, διαταραχές στην ανάπτυξη νέων ατόμων.

Συμπτώματα που μπορεί να εμφανιστούν ακόμα και χρόνια αργότερα ανήκουν τοξικές επιδράσεις στα έμβρυα όπως αποβολή, τερατογένεση(λυκοστομία), διάφοροι τύποι καρκίνου, επιδράσεις στον ασβεστοποιημένο ιστό διαταραχές στο σμάλτο και στα δόντια. [65] Μελέτες σε πειραματόζωα που τους χορηγήθηκε TCDD έδειξαν ότι οι διοξίνες ευθύνονται για την ανάπτυξη ενδομητρίωσης στις γυναίκες. [66]

Μια ακόμα επίδραση στα άτομα που είχαν εκτεθεί σε διοξίνες φαίνεται να είναι η αναλογία φύλων. Έχει επιβεβαιωθεί από μελέτες και προφανώς οφείλεται σε κάποια δράση της TCDD στο αναπαραγωγικό σύστημα του ανθρώπου, ενώ υπό φυσιολογικές συνθήκες η αναλογία των φύλων είναι σχεδόν ίση, σε γονείς που είχαν εκτεθεί σε διοξίνες η συντριπτική πλειοψηφία των παιδιών που γεννήθηκαν ήταν κορίτσια. [67]

Όσο αφορά τα PCBs φαίνεται να έχουν πολλές κοινές επιπτώσεις με αυτές των διοξινών, οι επιδράσεις των υψηλών δόσεων σε ανθρώπους μπορούν να ερευνηθούν σε αυτούς που εκτέθηκαν σε PCBs είτε στο χώρο εργασίας είτε από δηλητηρίαση, δυο ατυχήματα μαζικής δηλητηρίασης από PCBs που προκλήθηκαν από κατάποση εδώδιμου ελαίου, το πρώτο ατύχημα ονομάστηκε «Yusho» και το δεύτερο «Yucheng».

Το πιο συνηθισμένο σύμπτωμα σε αυτούς που εκτίθενται στο χώρο εργασίας είναι η χλωρακμή. Παρατηρήθηκαν πολλές επιδράσεις στους δηλητηριασμένους ανθρώπους όπως αλλοίωση στο συκώτι, δερματικές βλάβες, δυσλειτουργία στην αναπνοή, πολλά οφθαλμολογικά και νευρολογικά συμπτώματα, βλάβη του ενδοκρινικού συστήματος, ανοσοποιητική ανεπάρκεια και δυσλειτουργίες στην αναπαραγωγή παρατηρήθηκαν τραύματα στο συκώτι και μεταβολές στους αναλυτές του ορού που σχετίζονται με το συκώτι (βιλιρουβίνη, τρανσφεράσες, β-γλυκουρονιδάση). Τα PCBs είναι ύποπτα και για ενδοκρινολογικές διαταραχές [68] που οφείλονται πιθανώς στις φυσικοχημικές ιδιότητες των PCBs να μιμούνται τις φυσικές ορμόνες. [69]

Οι πιο σοβαρές επιπτώσεις των ενώσεων αυτών εμφανίζονται στα παιδία. Έχει παρατηρηθεί ότι μητέρες με υψηλές συγκεντρώσεις PCBs στο αίμα τους γεννούσαν βρέφη πρόωρα και με σημαντικά μειωμένο βάρος, σε αυτές τις γυναίκες παρατηρήθηκαν και περισσότερες αποβολές. Πιστεύεται ότι τα PCBs και παρόμοιες ενώσεις ευθύνονται για αιμορραγίες οι οποίες είναι αιτία για νοσήματα και θνησιμότητα στα βρέφη οι οποίες μεταδίδονται σε αυτά με το μητρικό γάλα. Παιδία τα οποία θήλαζαν γάλα με υψηλές συγκεντρώσεις PCBs ήταν λιγότερο δραστήρια. [68] Μια ερεύνα που πραγματοποιήθηκε πολλά χρόνια αργότερα σε παιδία που είχαν εκτεθεί σε PCBs αποκάλυψε μια σειρά ανωμαλιών

όπως συνεχή εξασθένιση του οργανισμού, βραδύτητα, έλλειψη αντοχής, υποτονικότητα, απάθεια, ασταθές περπάτημα και πολύ χαμηλό IQ. [69]

Έχουν βρεθεί υψηλά επίπεδα μερικών ογκογενών πρωτεϊνών και χρωματοσωματικών ανωμαλιών στις επιφάνειες των λεμφοκύτταρων του αίματος σε εργάτες που εκτέθηκαν σε PCBs, που υποδεικνύουν την καρκινογένεση τους η οποία και αποδείχτηκε πρόσφατα από τον IARC. [68] Γενικά, είναι δύσκολο να δοθούν ακριβείς ερμηνείες για τις επιπτώσεις των PCBs στον άνθρωπο εξαιτίας της πιθανής παρουσίας και ενώσεων που είναι σχετικές με πολυχλωριωμένα διφαινύλια.

Η απορρόφηση των PCBs γίνεται κατευθείαν από τους πνεύμονες, το γαστρεντερικό σύστημα και το δέρμα. Αφού εισέλθουν στον οργανισμό μεταφέρονται στο ήπαρ και στους μυς, ενώ επειδή είναι λιπόφιλες κατανέμονται στον ενδιάμεσο λιπώδη ιστό, ο μεταβολισμός γίνεται κυρίως στο ήπαρ, λιγότερο χλωριωμένα PCBs μεταβολίζονται ευκολότερα. [69] Στην περίπτωση των διοξινών γίνεται απορρόφηση από το γαστρεντερικό σωλήνα, το δέρμα και τους πνεύμονες, ο βαθμός απορρόφησης ποικίλλει ανάλογα με το ομοειδές, την οδό απορρόφησης και τον τρόπο πρόσληψης. Η βιοσυσσώρευση είναι ιδιαίτερα αισθητή στο ήπαρ και το λιπώδη ιστό, μεταβολίζονται δύσκολα και αποβάλλονται κυρίως από τα περιττώματα. [70]

2.3.2 Επιπτώσεις στα ζώα

Η βιομηχανία του 20ου αιώνα και η παραγωγή χλωρίου εξέθεσε τον ζωικό πληθυσμό και την αγρία πανίδα όπως και τον άνθρωπο στις διοξίνες. Γενικά φαίνεται ότι ο άνθρωπος είναι λιγότερο ευαίσθητος στις επιδράσεις της διοξίνης σε σχέση με τα εργαστηριακά ζώα για ορισμένες επιπτώσεις ή περισσότερο ευαίσθητος για άλλες.

Διάφορα περιστατικά επιβεβαιώνουν τις δυσμενείς συνέπειες των διοξινών στα ζώα, η ασθένεια και ο θάνατος αλόγων και άλλων ζώων ήταν ένα από τα πρώτα σημάδια προβλημάτων στο Times Beach, Μισούρι όπου το TCDD ήταν ο τοξικός παράγοντας. Επιδημίες αναπαραγωγικών και αναπτυξιακών προβλημάτων παρατηρήθηκαν σε πουλιά που τρεφόντουσαν με ψάρια από τις Great lakes αλλά και αλλού, υπάρχουν αποδείξεις ότι αυτό συνέβαινε εξαιτίας αυτών των ενώσεων, στην ίδια περιοχή παρατηρήθηκε θνησιμότητα εμβρύων, οίδημα και παραμορφώσεις στα νεογνά. Οι νευροτοξικές επιδράσεις ορι-

σμένων NDL-PCB ενδέχεται να συνέβαλαν ώστε πουλιά από μια μολυσμένη περιοχή να εκκολάψουν λιγότερα αυγά, καθώς τα φρόντισαν λιγότερο. [71]

Τα αναπτυσσόμενα ζώα μπορεί να είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε ενώσεις παρόμοιες με διοξίνη. Οι επίμονες ενώσεις βιοσυσσωρεύονται στον ενήλικα και μεταφέρονται στον ευάλωτο αναπτυσσόμενο οργανισμό. Όμοια με τους ανθρώπους τα ψάρια και τα πουλιά συσσωρεύουν αυτές τις ενώσεις και τις μεταφέρουν στα αυγά τους. Μελέτες για την άγρια πανίδα υποδηλώνουν ότι ολόκληρα οικοσυστήματα έχουν υπερφορτωθεί με ενώσεις που μοιάζουν με διοξίνες αυτό είναι αποτέλεσμα της γενικότερης περιβαλλοντολογικής μόλυνσης παρά μεμονωμένων ατυχημάτων ή διαρροών.

Ανοσοκαταστολή φαίνεται να προκαλούν τα PCBs. Μελέτες σε εργαστηριακά ζώα έδειξαν ότι υπάρχουν μεγάλες διαφοροποιήσεις στην ευαισθησία τους και στους τύπους των επιδράσεων ανάμεσα στα είδη. Αυτές οι επιδράσεις ευνοούνται από την εισαγωγή ξενοβιοτικών ενζύμων μεταβολισμού, παράλληλα υπάρχουν ανταγωνιστικοί συσχετισμοί ανάμεσα στα πολυχλωριωμένα διφαινύλια και μερικά άλλα τοξικά χημικά, όπως η αναστολή της αφλατοξίνης B_1 κατά τη μεσολάβηση καρκινογένεσης των PCBs. [68] Οι υπόλοιπες τοξικές επιδράσεις των PCBs στα ζώα φαίνεται να μοιάζουν με αυτές των διοξινών.

Έκθεση για μικρά χρονικά διαστήματα δείχνουν να έχουν κοινές επιδράσεις σε όλα τα θηλαστικά που εκτίθενται στο 2,3,7,8-TCDD, τέτοιες είναι η απώλεια σωματικού βάρους και η συρρίκνωση του θύμου αδένα, ακολουθούμενος από θάνατο περίπου τρεις εβδομάδες μετά την έκθεση. Άλλες επιδράσεις που παρατηρήθηκαν σε δοκιμές στα θηλαστικά ήταν δερματικές αλλοιώσεις, όπως εξανθήματα, διόγκωση του δέρματος, αποχρωματισμός, τριχόπτωση, βλάβη του ήπατος και αλλαγές στα λευκοκύτταρα του αίματος και του μυελού των οστών. Ενώ άλλες διοξίνες και φουράνια έχουν μικρότερη οξεία τοξικότητα από το 2,3,7,8-TCDD προκαλούν παρόμοια συμπτώματα. Η τοξικότητα τους ποικίλλει ευρέως και εξαρτάται από τον αριθμό και τη θέση των ατόμων χλωρίου στο μόριο. Οι πιο τοξικές διοξίνες και φουράνια είναι εκείνες με τέσσερα, πέντε ή έξι χλώρια, ειδικά όταν η υποκατάσταση είναι στις θέσεις 2, 3, 7 και 8.

Τα εργαστηριακά ζώα υποβάλλονται σε μακροχρόνιες εκθέσεις 2,3,7,8-TCDD δια του στόματος πολλά από τα συμπτώματα προκαλούνται από οξείες εκθέσεις. Τα μολυσμένα ζώα εμφανίζουν το λεγόμενο σύνδρομο εξασθένισης (wasting syndrome) περιλαμβάνει μειωμένη κατανάλωση τροφής και μειωμένο σωματικό βάρος, ακολουθείτε συχνά από θά-

νατο. Κάποια είδη εμφανίζουν μεταβολές του δέρματος όμοιες με ακμή, κάποια συσσωρεύουν υγρό κάτω από το δέρμα. Ζώα που εκτίθενται σε θανατηφόρες δόσεις 2,3,4,5-TCDD παρουσιάζουν σημαντική απώλεια λίπους, συρρίκνωση θύμου αδένα, σπλήνας, και λεμφικών ιστών, αλλαγές στον αριθμό των αιμοσφαιρίων, βλάβες του αγωγού της χολής, της ουροδόχου κύστης και αλλαγές στο ήπαρ. [7] Όταν οι διοξίνες χορηγούνται από το στόμα στα πειραματόζωα κατανέμονται κυρίως στο αίμα, στο ήπαρ, στους μύες, στο δέρμα και στον λιπώδη ιστό. Η βιοσυσσώρευση είναι ιδιαίτερα εμφανής στο ήπαρ και τον λιπώδη ιστό. [70]

Μελέτες για διοξίνες και φουράνια που είναι υποκατεστημένα στις θέσεις 2,3,7,8 έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα, ωστόσο χρειάστηκαν υψηλότερες δόσεις. Οι περισσότερες διοξίνες και φουράνια που υποκαθίστανται στις θέσεις 2,3,7 και 8 επηρεάζουν το ανοσοποιητικό σύστημα θηλαστικών, αυτό είναι σημαντικό επειδή θέτει τον ζωικό οργανισμό επιρρεπή σε λοιμώξεις. Μελέτες σε ζώα δείχνουν ότι η μακροχρόνια έκθεση σε 2,3,7,8-τετραχλωροδιβενζοδιοξίνη μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό όγκων και καρκινωμάτων, το οποίο δρα ως υποκινητής καρκίνου και όχι ως απόλυτα καρκινογόνο. Η παρουσία όγκων τόσο στη περιοχή θεραπείας όσο και μακριά από αυτή υποδεικνύει ότι το 2,3,7,8-TCDD μπορεί να δράσει τόσο τοπικά όσο και σε όλο το σώμα. Οι διοξίνες και τα φουράνια μπορούν επίσης να επηρεάσουν την αναπαραγωγή και την ανάπτυξη των απογόνων ανάλογα με τη δόση, την ένωση που εμπλέκεται, τον τρόπο χορήγησης και το είδος του ζώου. [7]

2.4 Κύκλος ζωής μετά την απελευθέρωση στο περιβάλλον

Εναπόθεση

Είναι η φυσική κατάσταση απελευθέρωσης και εξαρτάται από τις χημικές ιδιότητες της χημικής ουσίας, όπως υδροφοβικότητα και λιποφιλικότητα στη περίπτωση των διοξινών, χαρακτηριστικά που τους υπαγορεύουν την οδό εναπόθεσης. Για παράδειγμα, οι διοξίνες σε αέρια κατάσταση που απελευθερώνονται στην ατμόσφαιρα θα συνδέονται με ατμούς ή σωματίδια αέρα και τείνουν να εναποτίθενται στο έδαφος, επιφανειακά νερά ή φυτά. Οι διοξίνες σε υγρά υπολείμματα τείνουν να εναποτίθενται μέσω ανθρώπινων διερ-

γασιών, όπως την εξάπλωση μολυσμένης λυματολάσπης στην ξηρά ή την απόρριψη σε επιφανειακά ύδατα.

Οι διοξίνες μετακινούνται και εναποτίθενται στους ζωντανούς οργανισμούς. Το 95% των εναποτιθέμενων μολυσματικών ρύπων λέγεται ότι τελικά εναποτίθεται στο χερσαίο περιβάλλον, υπογραμμίζοντας τη σημασία εναπόθεσης της ατμόσφαιρας προς το έδαφος ως πρόδρομος της έκθεσης του ανθρώπου. Οι διοξίνες επίσης έχουν φυσική τάση εισόδου στην αέρια φάση κάτω από χαμηλές πιέσεις ατμών και περιβαλλοντικές θερμοκρασίες, επιτρέποντάς τους για εκ νέου πτητικοποίηση μετά την εναπόθεση. Ο κύκλος της απόθεσης και επανεξαέρωσης μπορεί να συμβεί πολλές φορές καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του μορίου ανθεκτικών οργανικών ρύπων, μεταφέροντας τους σε μεγάλες αποστάσεις.

Συσσώρευση

Οι διοξίνες εναποτίθενται σε εδάφη με τη μορφή υγρών υπολειμμάτων, αερίων συνδεδεμένων με σωματίδια ή μέσω μετάδοσης σε γειτονικά υδάτινα συστήματα. Είναι γνωστό ότι έχουν σχετικά μεγάλη ξηρή και υγρή εναπόθεση σε σωματίδια στα εδάφη λόγω της μεγάλης συγγένειας δέσμευσης στο οργανικό μέρος του εδάφους. Σε σύγκριση με άλλα μέσα, οι διοξίνες αποικοδομούνται στο έδαφος με σχετικά αργό ρυθμό επιτρέποντάς τους να συσσωρεύονται με την πάροδο του χρόνου, δεδομένων των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους.

Η κίνηση των διοξινών στην αέρια ή υγρή φάση υπό τυπικές εδαφικές συνθήκες είναι πολύ περιορισμένη. Μελέτες έχουν δείξει ότι για ένα δεδομένο ποσοστό ατμοσφαιρικής εναπόθεσης στο έδαφος, το 80% των διοξινών θα διατηρηθεί στην επιφάνεια του εδάφους μεχρι 15 cm. Ωστόσο, η ικανότητα του εδάφους να συγκρατεί αυτές τις ενώσεις εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ποσότητα των διοξινών που εναποτίθενται και την ποσότητα του οργανικού άνθρακα στο χώμα. Παρουσιάζεται σε ορισμένες μελέτες περιπτώσεων διοξινών υψηλής μόλυνσης (π.χ. χώροι υγειονομικής ταφής) αποκαλύφθηκε ότι είχαν διαφύγει στα υπόγεια ύδατα.

Οι διοξίνες που βρίσκονται στα υδάτινα συστήματα είναι συχνότερα αποτέλεσμα απορρίψεων ανθρωπογενών αποβλήτων, ατμοσφαιρικής εναπόθεσης ή απορροή υγρών λυμάτων από αστικές περιοχές. Μόλις βρεθούν στο νερό, οι διοξίνες θα κατακάθονται και θα συνδεθούν με ιζήματα, καθώς και θα συσσωρευτούν σε υδρόβιους οργανισμούς. Οι διοξίνες προσδένονται σε ιζήματα στα υδάτινα συστήματα επειδή είναι υδρόφοβες και φυσι-

κώς θα προσκολληθούν στην οργανική ύλη σε ιζήματα αντί να παραμείνουν αιωρούμενες σε υγρή κατάσταση. Όταν δεσμεύονται σε ιζήματα, οι διοξίνες τείνουν να παγιδεύονται για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Ωστόσο, δεν διαχωρίζονται όλες οι διοξίνες στα ιζήματα, βρέθηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των διοξινών που συσσωρεύονται στα ιζήματα και των επιπέδων αυτών των ενώσεων σε υδρόβιους οργανισμούς όπως τα ψάρια. Η κατάποση μολυσμένων ιζημάτων και η κατανάλωση των μολυσμένων τροφίμων στην υδάτινη αλυσίδα διατροφής έχουν αποδειχθεί ότι είναι τα κύρια μονοπάτια στα οποία τα ψάρια προσλαμβάνουν διοξίνες.

Βιοσυσσώρευση

Η βιοσυσσώρευση είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της συσσωρευμένης συγκέντρωσης διοξινών εντός των ζώντων οργανισμών. Τόσο τα φυτά όσο και τα ζώα είναι ευαίσθητα σε βιοσυσσώρευση διοξινών κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Η βιοσυσσώρευση και στις δύο περιπτώσεις είναι αποτέλεσμα της πρόσληψης (δηλαδή βιομεταφορά) ποσοστών διοξινών από διάφορα μέσα.

Κατ' αρχήν, τα φυτά μπορούν να προσλαμβάνουν διοξίνες μέσω μιας σειράς διαδικασιών: απορρόφηση από επιφάνειες ριζών, πρόσληψη μέσω των ριζών και μεταφορά στο βλαστό, απορρόφηση πτητικών διοξινών, μόλυνση του φυλλώματος και των φρούτων από σωματίδια του εδάφους ή εναπόθεση αερομεταφερόμενων διοξινών. Μελέτες ωστόσο έχουν αποδείξει ότι σε εξωτερικές συνθήκες, η ατμοσφαιρική εναπόθεση είναι ο κύριος δρόμος για τη μετάδοση διοξινών σε φυτά. Η διαδικασία μεταφοράς αέρα-προς-φύλλο είναι ωστόσο αναστρέψιμη, ως εκ τούτου, οι συγκεντρώσεις διοξίνης στα φυτά καθορίζονται από τις κοντινές συγκεντρώσεις του αέρα, η μεταφορά διοξινών από αέρα σε φύλλο συνδέεται στενά με τις συγκεντρώσεις του εδάφους κοντά σε φυτά, αυτό πιθανότατα οφείλεται στην επανεξαέρωση των διοξινών από τα εδάφη στον αέρα. Αυτή η διαδικασία ατμόσφαιρα-φύλλο μεταφέρει διοξίνες σε φυτά και επιτρέπει την εμφάνιση βιοσυσσώρευσης.

Η βιοσυσσώρευση διοξινών στα φυτά επιτρέπει τη βιομεταφορά αυτών των ενώσεων στην τροφική αλυσίδα, προσκολλώντας σε λιπαρούς ιστούς στα ζώα και βιοσυσσώρευση σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από ότι στα φυτά. Η βιοσυσσώρευση των διοξινών στα ζώα δεν συσχετίζεται τόσο έντονα με τις κοντινές συγκεντρώσεις διοξινών στα διαφορά μέσα, όπως συμβαίνει με τα φυτά. Τα χερσαία ζώα που τρώνε τα φυτά όπως τα μηρυ-

καστικά που βόσκουν θα συσσωρεύουν διοξίνες με βάση τις τοπικές συγκεντρώσεις της βλάστησης.

Από την άλλη πλευρά, σε ένα υδάτινο περιβάλλον ορισμένα μεταναστευτικά είδη ψαριών μπορούν να θεωρήσουν θήραμα μικρότερα ψάρια ή πλαγκτόν σε τοπικές ή ακόμη και μακρινές περιοχές υδάτινων σωμάτων κατά τη διάρκεια της ζωής τους.

Διάσπαση

Όταν μια χημική ένωση εναποτίθεται στο περιβάλλον, η μετακίνηση και η συσσώρευσή της καθορίζονται από τη διαδικασία και το ρυθμό με τον οποίο αποικοδομείται. Αποικοδόμηση είναι όταν μια χημική ένωση αντιδρά και υφίσταται δομική αποσύνθεση μέχρι να είναι αδρανής. Όσο πιο γρήγορα μια ένωση υποβαθμίζεται, τόσο λιγότερο πιθανό είναι να συσσωρευτεί στο περιβάλλον.

Ο ρυθμός αποικοδόμησης των χημικών ενώσεων αναφέρονται ως χρόνος ημιζωής, οι οποίοι είναι εκτιμήσεις με βάση τη χημική τους δομή και την αντίδραση στη δομή των μέσων (δηλ. έδαφος, ιζήματα, νερό, αέρα και ζώντες οργανισμοί) στα οποία υπάρχουν. Κάθε χημική ένωση αντιδρά μοναδικά στα μέσα που έρχονται σε επαφή. Η πιο γνωστή διαδικασία αποδόμησης για την απομάκρυνση διοξινών από το περιβάλλον περιλαμβάνει: βιοαποικοδόμηση, υδρόλυση, ατμοσφαιρική οξείδωση και φωτόλυση. [72]

Η βιοαποικοδόμηση είναι μια διεργασία επεξεργασίας που χρησιμοποιεί μικροοργανισμούς όπως μύκητες και βακτήρια για την αποικοδόμηση επικίνδυνων ουσιών σε μη τοξικές ουσίες. Οι μικροοργανισμοί διασπούν τους οργανικούς ρύπους σε ακίνδυνα προϊόντα, κυρίως διοξείδιο του άνθρακα και νερό. Μόλις διασπαστούν οι τοξικές ενώσεις μειώνεται ο μικροβιακός πληθυσμός καθώς έχουν χρησιμοποιήσει όλη την πηγή τροφής τους.

Οι μικροοργανισμοί μπορεί να είναι αυτόχθονες ή εξωγενείς, αυτόχθονές εννοούμε τους μικροοργανισμούς που υπάρχουν ήδη σε μια συγκεκριμένη τοποθεσία. Εάν η βιολογική δραστηριότητα που απαιτείται για την αποικοδόμηση ενός συγκεκριμένου μολυσματικού παράγοντα δεν υπάρχει στο έδαφος της περιοχής, μικροοργανισμοί από άλλες τοποθεσίες, των οποίων η αποτελεσματικότητα έχει δοκιμαστεί, μπορεί να προστεθεί στο μολυσμένο έδαφος αυτοί ονομάζονται εξωγενείς μικροοργανισμοί. Η διαδικασία αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί κάτω από αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες. Μια βασική διαφορά μεταξύ της αερόβιας (οξειδωτικής) και της αναερόβιας διάσπασης είναι η πρώτη που χρη-

σιμοποιείται κυρίως για τα χαμηλότερα χλωριωμένα ομοειδή και η δεύτερη για τα υψηλά χλωριωμένα ομοείδη (υδροχλωρίωση). [31]

Στην ατμόσφαιρα η ατμοσφαιρική οξείδωση μέσω αντίδρασης υδροξυλικών ριζών φαίνεται να είναι μια σημαντική διαδικασία αποικοδόμησης τόσο για τη σωματιδιακή φάση όσο και για τη φάση ατμού των ενώσεων αυτών. Τα ποσοστά ατμοσφαιρικής φωτοξείδωσης αυξάνονται τους καλοκαιρινούς μήνες και μειώνονται με την αύξηση της χλωρίωσης των διοξινών και παρόμοιων με διοξίνες ενώσεων.

Κατά τη φωτόλυση το φως προκαλεί διάσπαση ενός χημικού δεσμού, όπως στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης. Η φωτόλυση είναι η κύρια περιβαντολογική τύχη των διοξινών και παρόμοιων με διοξίνες ενώσεων στο νερό, αλλά είναι σχετικά αργή. Οι ομοειδής διοξίνες υποκατεστημένες στις 2,3,7 και 8 θέσεις, αντί για τις θέσεις 1,4,6 και 9 υποβαθμίζονται πιο εύκολα. Στο φως του ήλιου η 2,3,7,8-TCDD στα φυσικά νερά αναμένεται να έχει χρόνο ημιζωής που κυμαίνεται από περίπου 3 ημέρες το καλοκαίρι έως 16 ημέρες το χειμώνα. Η φωτολυτική αποικοδόμηση των PCB αυξάνεται με χλωρίωση της ένωσης. Ωστόσο, το OCDD ομοειδές είναι ανθεκτικό σε αυτήν τη διαδικασία. Για PCB που μοιάζουν με διοξίνες, καθώς αυξάνεται η χλωρίωση, το ίδιο κάνει και ο ρυθμός φωτολύσεως. Σε αντίθεση με άλλες τέτοιες ενώσεις, τα λιγότερο χλωριωμένα PCB είναι πιο ανθεκτικά στη φωτόλυση και αποτελούν προϊόντα φωτολύσεως των πιο χλωριωμένων συγγενών. [32]

2.5 Ανεκτή ημερήσια πρόσληψη TDI

Ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (TDI) είναι η ποσότητα πρόσληψης ανά kg σωματικού βάρους ανά ημέρα μιας χημικής ουσίας για την οποία υπάρχει υποψία ότι προκαλεί επιβλαβείς επιπτώσεις στην υγεία ως αποτέλεσμα μακροχρόνιας ενσωμάτωσης στον οργανισμό, η οποία κρίνεται ότι δεν προκαλεί δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία ακόμη και αν οι άνθρωποι παίρνουν αυτό το ποσό αυτό καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους. [73]

Είναι μια αριθμητική εκτίμηση δόσης δια μέσω στόματος, που μπορεί να ληφθεί από τον γενικό πληθυσμό συμπεριλαμβανομένων των ευαίσθητων ομάδων όπως τα παιδιά, σε μια δεδομένη στιγμή, χωρίς τον κίνδυνο πρόκλησης βλαβερών επιπτώσεων κατά τη διάρκεια της ζωής τους.

Γενικότερα χρησιμοποιείται για επιπτώσεις στην υγεία, που πιστεύεται ότι έχουν κατώτατο όριο ή χαμηλότερο δυνατό όριο για να προκαλέσουν επιπτώσεις. Ο όρος ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (TDI) προτάθηκε τη δεκαετία του 1970 από την JECFA για μολυσματικούς παράγοντες που υπάρχουν στα τρόφιμα. Τα TRVs (Τοξικολογικές τιμές αναφοράς) για διοξίνες και DL-PCB χρησιμοποιούνται πιο συχνά στην Ευρωπαϊκή Ένωση παρουσιάζονται στον Πίνακα 3. [49]

Για τον υπολογισμό του TDI εάν μια ουσία έχει γονιδιοτοξικότητα, όπως οι διοξίνες, η πιθανότητα να προκαλέσει επιπτώσεις στην υγεία δεν είναι θεωρητικά ποτέ μηδενική, ανεξάρτητα από το πόσο μικρή είναι η δόση. Για τον λόγο αυτό, είναι αδύνατο να οριστεί ένα επίπεδο πρόσληψης κάτω από το οποίο η ουσία δεν μπορεί να προκαλέσει επιπτώσεις στην υγεία (NOAEL). Με άλλα λόγια, δεν θεωρείται ότι υπάρχει κατώτατο όριο σχετικά με τον κίνδυνο επιπτώσεων στην υγεία. Οπότε για τον άνθρωπο δεν ήταν δυνατό να υπολογισθεί το όριο από το επίπεδο που δεν παρατηρούνται δυσμενείς επιδράσεις (NOAEL) και χρησιμοποιείται το ελάχιστο επίπεδο που παρατηρούνται δυσμενείς επιδράσεις (LOAEL). [73]

Πίνακας 3: Τοξικολογικές τιμές αναφοράς για τις διοξίνες και τα DL-PCBs καθορισμένοι από διεθνής οργανισμούς[1]

Τοξικολογική τιμή αναφοράς(TRV)	**pg TEQ/kg bw/day**	**Έτος**	**Οργανισμός**
TDI-ανεκτή ημερήσια πρόσληψη	1-4	1998	WHO [47]
	2	2001	EU [49]
PTWI-προσωρινή ανεκτή εβδομαδιαία πρόσληψη	7	2000	SCF [74]
TWI- ανεκτή εβδομαδιαία	14	2001	SCF [75]

πρόσληψη			
PTMI- προσωρινή ανεκτή μηνιαία πρόσληψη	70	2001	JECFA [75]

[1]EU: Ευρωπαϊκή Ένωση, SCF: Επιστημονική Επιτροπή για τα Τρόφιμα, JECFA: Κοινή Επιτροπή Εμπειρογνώμων για τα Πρόσθετα Τροφίμων FAO/WHO, WHO: Διεθνής Οργανισμός Υγείας.

Σε αντίθεση με τα TRV που καθιερώθηκαν στα τέλη του 1990 και αρχές 2000, με βάση τα αποτελέσματα των δοκιμών σε πειραματόζωα, η US EPA προέβη σε μια τιμή RfD (δόση αναφοράς) από ανθρώπινες επιδημιολογικές μελέτες σε έναν ανθρώπινο πληθυσμό, ο οποίος εκτέθηκε σε TCDD μέσω ενός βιομηχανικού ατυχήματος στο Seveso. Το RfD, ως ανάλογο του TDI, είναι μια εκτίμηση της καθημερινής έκθεσης δια του στόματος του ανθρώπινου πληθυσμού (συμπεριλαμβανομένων των ευαίσθητων ομάδων) ισούται με 0,7 pg/kg BW ανά ημέρα για χρόνια έκθεση στο 2,3,7,8-TCDD.

Επιπλέον ο ASTDR έχει καθιερώσει ελάχιστο επίπεδο κινδύνου 1,0 pg/kg BW ανά ημέρα για διοξίνες, χρόνιας έκθεσης δια στόματος. Οι διαφορές στις τιμές για τις διοξίνες και τα DL-PCB είναι αποτέλεσμα διαφορετικών μεθοδολογιών εκτίμησης κινδύνου, διαφορές στις υποθέσεις ανάλογα με το σκοπό της εκτίμησης κινδύνου, διαφορές στην κρίση των εμπειρογνωμόνων και διαφορές στα σύνολα δεδομένων που εφαρμόστηκαν στην αξιολόγηση. [49]

Η σύσταση 2006/88/ΕΚ της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, της 6ης Φεβρουαρίου 2006, για τη μείωση της παρουσίας διοξινών, φουρανίων και πολυχλωριωμένων διφαινυλίων στις ζωοτροφές και στα τρόφιμα, συνιστά στα κράτη μέλη να διενεργούν έλεγχο με τυχαία δειγματοληψία για την παρουσία διοξινών και παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs, καθώς και –αν είναι δυνατό– μη παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs.

2.6 Επίπεδα δράσης

Τα επίπεδα δράσης αποτελούν εργαλείο για τις αρμόδιες αρχές και τους υπευθύνους επιχειρήσεων τροφίμων και ζωοτροφών για την επισήμανση των περιπτώσεων εκείνων στις οποίες είναι σκόπιμο να προσδιοριστεί η πηγή μόλυνσης και να ληφθούν μέτρα για τη μείωση ή την εξάλειψή της τοξικής ουσίας. Επειδή οι πηγές των διοξινών και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB είναι διαφορετικές, πρέπει να καθοριστούν ξεχωριστά επίπεδα δράσης, αφενός, για τις διοξίνες και, αφετέρου, για τα παρόμοια με τις διοξίνες PCB. Συμφωνά με τον κανόνα της Ευρωπαϊκής Επιτροπής 2013/711/ΕΕ τέθηκαν επίπεδα δράσης για τις παραπάνω ουσίες (Πίνακας 4).

Πίνακας 4: Επίπεδα δράσης TEQ PCDD/Fs και TEQ PCBs για τα βοοειδή, τα πρόβατα, τα πουλερικά, γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα

Τρόφιμα	**Επίπεδα δράσης**	
	Άθροισμα διοξινών και φουρανίων (WHO-TEQ)	Άθροισμα DL-PCBs (WHO-TEQ)
Κρέας και προϊόντα με βάση το κρέας (εξαιρούμενων των βρώσιμων εντοσθίων)		
- Βοοειδή και πρόβατα	1,75 pg/g λίπους	1,75 pg/g λίπους
- Πουλερικά	1,25 pg/g λίπους	0,75 pg/g λίπους

Νωπό γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων των λιπαρών ουσιών του βουτύρου	1,75 pg/g λίπους	2,00 pg/g λίπους

Πηγή: Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 2013/711

2.7 Ευθύνη των υπεύθυνων επιχειρήσεων τροφίμων

Σε αυτό το σημείο πρέπει να υπογραμμιστεί η γενική ευθύνη των Υπευθύνων των Επιχειρήσεων Τροφίμων (FBOs) από τη Γενική Νομοθεσία για τα Τρόφιμα που θέτει ο Κανονισμός ΕΚ 178/2002. [76] Ακόμη όσοι φορείς εμπλέκονται στην εμπορία τροφίμων ζωικής προέλευσης θα πρέπει να εξασφαλίζουν ότι τα προϊόντα τους συμμορφώνονται με τα νομοθετικά όρια για τα PCDD/Fs, τα DL-PCBs και τα NDL-PCBs. Οι FBOs πρέπει να γνωρίζουν και να παρακολουθούν τα αποτελέσματα των ερευνών αναγνωρισμένων οργανισμών όπως η EFSA και ο ΕΦΕΤ.

Καθώς οι αναλύσεις για τις διοξίνες είναι σχετικά ακριβές, θα πρέπει να πραγματοποιούνται περιοδικές δοκιμές στο βαθμό που είναι εφικτό τουλάχιστον από τη βιομηχανία παρασκευής τροφίμων και ζωοτροφών, συμπεριλαμβανομένων τόσο των εισερχόμενων πρώτων υλών όσο και των τελικών προϊόντων και πρέπει τα δεδομένα να κρατούνται. Οι αγρότες, οι κτηνοτρόφοι οι παρασκευαστές τροφίμων και ζωοτρόφων πρέπει να επιμορφώνονται συνεχώς καθώς και να εκπαιδεύουν το προσωπικό τους σχετικά με τον τρόπο πρόληψης της μόλυνσης από την εφαρμογή μέτρων ελέγχου. [77]

2.8 Έλεγχος και πρόληψη της έκθεσης

Θέσπιση τεχνολογιών για τη μείωση του σχηματισμού και της απελευθέρωσης διοξινών και PCBs από τις πηγές εκπομπής πρέπει να ληφθούν υπόψη από εθνικούς οργανισμούς όταν αναπτύσσουν εθνικά μέτρα για την μείωση διοξινών, DL-PCBs και NDL-PCB. Τα μέτρα για τη μείωση των πηγών εκπομπών διοξίνης πρέπει να κατευθύνονται στη

μείωση του σχηματισμού διοξίνης κατά τη διάρκεια θερμικών διεργασιών καθώς και την εφαρμογή τεχνικών καταστροφής στην ελαχιστοποίηση των εκλύσεων από τον υπάρχοντα εξοπλισμό (μετασχηματιστές, πυκνωτές) για την πρόληψη ατυχημάτων και στον καλύτερο έλεγχο της διάθεσης λαδιών και αποβλήτων που περιέχουν διοξίνες και PCBs.

Τα μέτρα για τον έλεγχο και τη πρόληψη της έκθεσης μέσω της τροφικής αλυσίδας στις διοξίνες μπορούν να εστιάζουν στη μείωση της περιβαντολογικής μόλυνσης (νερό, έδαφος, αέρας), ζωοτροφών και συστατικών των ζωοτροφών, τη μείωση του σχηματισμού διοξινών κατά την επεξεργασία τροφίμων και ζωοτροφών (επεξεργασία ξήρανσης, καπνισμός) και στις ορθές γεωργικές και κτηνοτροφικές πρακτικές και τη διάρκεια παραγωγής, μεταποίησης, αποθήκευσης, διανομής και πώλησης των τροφίμων και ζωοτροφών.

Όταν μια περιοχή είναι ύποπτη για μόλυνση άνω του επιτρεπτού ορίου πρέπει να υπάρχουν συστήματα παρακολούθησης, να υπάρχει σχέδιο για τον εντοπισμό, κράτηση και διάθεσης των μολυσμένων ζώων και ζωοτροφών. Σε περίπτωση σημαντικής έκθεσης, ο εκτεθειμένος πληθυσμός θα πρέπει να εξεταστεί από άποψη έκθεσης (π.χ. μέτρηση των ρύπων στο αίμα ή στο ανθρώπινο γάλα) και συμπτωμάτων (π.χ. κλινική παρακολούθηση για τυχόν προβλήματα στην υγεία).

2.9 Συνιστώμενα μέτρα

Προκειμένου να μειωθεί η επιβάρυνση των τροφίμων, θα πρέπει πρώτα να ληφθούν υπ' όψιν ορισμένα μέτρα για τη μείωση των διοξινών. Συνιστώμενες πρακτικές βασίζονται σε ορθές γεωργικές πρακτικές (GAPS), Ορθής Βιομηχανικής Πρακτικής (GMPS), καλές πρακτικές αποθήκευσης (GSPS), Καλής Πρακτικής Σίτισης των Ζώων (GAFPS) και καλές εργαστηριακές πρακτικές (GLPS). Μεταξύ πολλών κάποια από τα μέτρα έλεγχου εντός της τροφικής αλυσίδας είναι:

Χώμα, αέρας και νερό

- Για τη μείωση της μόλυνσης από διοξίνες και PCB στον αέρα, οι εθνικές αρχές τροφίμων πρέπει να συστήσουν στις εθνικές αρχές που είναι αρμόδιες για μέτρα ατμοσφαιρικής ρύπανσης τον περιορισμό της ανεξέλεγκτης καύσης αποβλήτων, συμπεριλαμ-

βανομένης της καύσης χώρων υγειονομικής ταφής ή της οικιακής καύσης αποβλήτων (backyard burning), και τη χρήση ξύλου επεξεργασμένου με PCP για οικιακούς θερμαντήρες.

- Τα μέτρα ελέγχου για την πρόληψη ή τη μείωση της μόλυνσης του περιβάλλοντος από διοξίνες και PCB είναι σημαντικά. Για τη μείωση της πιθανής μόλυνσης των ζωοτροφών ή των τροφίμων, γεωργικής γης με μη αποδεκτή μόλυνση από διοξίνες και PCB λόγω τοπικών εκπομπών, ατυχημάτων ή παραμονή μολυσμένων υλικών πρέπει να προσδιοριστεί.
- Η γεωργική παραγωγή σε μολυσμένες περιοχές πρέπει να αποφεύγεται ή να περιορίζεται εάν αναμένεται σημαντική μεταφορά διοξινών και PCB στις ζωοτροφές και τα τρόφιμα που παράγονται σε αυτές τις περιοχές.
- Πρέπει να αποφεύγεται η διασπορά λυματολάσπης επιβαρυμένης με διοξίνη και PCBs η οποία προσκολλάται στη βλάστηση και αυξάνει την έκθεση των ζωών. Η λυματολάσπη πρέπει να παρακολουθείται για τη συμμόρφωση με τα επίπεδα των κατευθυντήριων γραμμών, οι εθνικές οδηγίες θα πρέπει να τηρούνται όπου απαιτείται.
- Τα ζώα, τα θηράματα και τα πουλερικά που εκτίθενται σε μολυσμένο έδαφος, ενδέχεται να συσσωρεύσουν διοξίνες και PCB με την κατανάλωση μολυσμένου εδάφους ή φυτών. Αυτές οι περιοχές πρέπει να ταυτοποιηθούν και η πρόσβαση σε ζώα που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση να ελέγχεται.
- Μέτρα μείωσης των πηγών μπορεί να χρειαστούν πολλά χρόνια για να μειωθούν τα επίπεδα μόλυνσης σε μη εκτρεφόμενα ψάρια λόγω της μεγάλης ημιζωής διοξινών και PCB στο περιβάλλον. Για να μειώσουμε την έκθεση σε διοξίνες και PCB μολυσμένες περιοχές (π.χ. λίμνες, ποτάμια ή μολυσμένες θαλάσσιες περιοχές αλίευσης) και αντίστοιχα είδη ψαριών πρέπει να ταυτοποιούνται και η αλιεία σε αυτές τις περιοχές πρέπει να ελέγχεται και, εάν είναι απαραίτητο, να περιοριστεί.

Ζωοτροφές

- Προσδιορισμός πιθανών μολυσμένων περιοχών παραγωγής πρώτων υλών ζωοτροφών και αναγνώριση της προέλευσης συχνά μολυσμένων ζωοτροφών και συστατικών ζωοτροφών.
- Παρακολούθηση της συμμόρφωσης των συστατικών ζωοτροφών και ζωοτροφών με τα εθνικά καθοριζόμενα επίπεδα ή ανώτατα επίπεδα, εάν υπάρχουν.
- Οι εθνικές αρχές πρέπει να λαμβάνουν περιοδικά δείγματα και να αναλύουν ύποπτα συστατικά ζωοτροφών και ζωοτροφών που χρησιμοποιούν αναγνωρισμένες διεθνείς

μεθόδους για την επαλήθευση των επιπέδων διοξίνης και PCB. Αυτές οι πληροφορίες θα καθορίσουν ενέργειες, εάν απαιτείται, για την ελαχιστοποίηση των επιπέδων διοξίνης και PCB και για να επιτρέπεται η τοποθέτηση εναλλακτικών συστατικών ζωοτροφών και ζωοτροφών, εάν κριθεί απαραίτητη.

- Ο αγοραστής πρέπει να προσέξει την προέλευση συστατικών ζωοτροφών και ζωοτροφών ώστε να διασφαλιστεί ότι οι παραγωγοί ή/και οι εταιρείες διαθέτουν πιστοποιημένες εγκαταστάσεις παραγωγής, διαδικασίες παραγωγής και προγράμματα διασφάλισης ποιότητας (π.χ. παρόμοιες με την αρχή του HACCP).

Συγκομιδή, μεταφορά και αποθήκευση

- Κατά τη διάρκεια συγκομιδής μεταφοράς και αποθήκευσης τροφίμων και ζωοτροφών θα πρέπει να διασφαλιστεί ότι η ελάχιστη μόλυνση με διοξίνες και PCBs εμφανίζεται κατά τη συγκομιδή ζωοτροφών και τροφίμων. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί σε πιθανώς μολυσμένες περιοχές ελαχιστοποιώντας την εναπόθεση του εδάφους σε ζωοτροφές και τρόφιμα κατά τη συγκομιδή χρησιμοποιώντας κατάλληλες τεχνικές και εργαλεία σύμφωνα με την ορθή γεωργική πρακτική.
- Ρίζες και κόνδυλοι που καλλιεργούνται σε μολυσμένο έδαφος, πρέπει να πλένονται για τη μείωση της μόλυνσης του εδάφους. Εάν οι ρίζες και οι κόνδυλοι πλυθούν, θα πρέπει να στεγνώσουν επαρκώς πριν από την αποθήκευση ή να αποθηκευτούν σύμφωνα με τεχνικές (π.χ. ενσίρωση) που έχουν σκοπό την αποτροπή σχηματισμού μούχλας.
- Η μεταφορά ζωοτροφών και τροφίμων πρέπει να πραγματοποιείται μόνο σε οχήματα (συμπεριλαμβανομένων των πλοίων) και σε εμπορευματοκιβώτια που δεν περιέχουν διοξίνες και PCB. Τα δοχεία αποθήκευσης για ζωοτροφές και τρόφιμα πρέπει να βάφονται με βαφές που δεν περιέχουν PCB, επίσης οι χώροι αποθήκευσης (τοίχοι, πατώματα) πρέπει να μην έχουν υποστεί επεξεργασία με χρώματα με βάση τη πίσσα, καθώς και επιφάνειες που έχουν έρθει σε επαφή με καπνό από πυρκαγιές μπορεί να συνεισφέρουν στη μεταφορά διοξινών και PCBs. Αυτοί οι χώροι πρέπει να ελέγχονται πριν τη χρήση για αποθήκευση ζωοτροφών και τροφίμων.

Εργαστηριακές αναλύσεις

- Τέλος, τα εργαστήρια που συμμετέχουν στην ανάλυση διοξινών και PCBs που χρησιμοποιούν επιβεβαιωτικές μεθόδους ανίχνευσης και ανάλυσης θα πρέπει να είναι

διαπιστευμένα από αναγνωρισμένο φορέα που λειτουργεί σύμφωνα με τον Οδηγό ISO/ IEC 58:19935 όπως αναθεωρήθηκε από το ISO/IEC 17011:20046. Τα διαπιστευμένα εργαστήρια πρέπει να ακολουθούν το πρότυπο ISO/IEC/17025 «Γενικές απαιτήσεις για την ικανότητα των εργαστηριακών δοκιμών και διακριβώσεων» ή άλλα ισοδύναμα πρότυπα. [77]

2.10 Κανονισμοί και συστάσεις σχετικά με τις εκπομπές διοξινών

Οι ευρωπαίοι πολίτες πρέπει να έχουν πρόσβαση σε ασφαλή και υγιεινά τρόφιμα που ανταποκρίνονται στα υψηλότερα πρότυπα. Για το σκοπό αυτό η Ευρωπαϊκή Επιτροπή ανέπτυξε μια ολοκληρωμένη νομοθετική προσέγγιση για την ασφάλεια των τροφίμων και την προστασία των συμφερόντων των καταναλωτών. Πολυάριθμες είναι οι διεθνείς συστάσεις της ΕΕ σχετικά με τις εκπομπές διοξινών και PCBs.

Προκειμένου να αντιμετωπισθεί η σημαντική περιβαλλοντική ρύπανση, για διοξίνες και φουράνια, η Επιτροπή, με βάση αξιολόγηση της εφαρμογής των βέλτιστων διαθέσιμων τεχνικών σε ορισμένες δραστηριότητες ή του αντίκτυπου αυτών των δραστηριοτήτων στο περιβάλλον, θέσπισε ελάχιστες απαιτήσεις όσον αφορά τις οριακές τιμές εκπομπών σε ολόκληρη την Ένωση και κανόνες σχετικά με την παρακολούθηση και τη συμμόρφωση.

Η Οδηγία 2010/75/ΕΕ γνωστή ως Οδηγία Βιομηχανικών Εκπομπών (IED), αναθεώρησε και ενοποίησε επτά παλαιότερες Οδηγίες, οι οποίες ρύθμιζαν θέματα όπως η ολοκληρωμένη πρόληψη και έλεγχος της ρύπανσης (Οδηγία IPPC), η αποτέφρωση/συναποτέφρωση αποβλήτων, οι μεγάλες εγκαταστάσεις καύσης (Οδηγία LCP) και ο περιορισμός των εκπομπών Πτητικών Οργανικών Ενώσεων.

Οι όροι αδειοδότησης, συμπεριλαμβανομένων και των οριακών τιμών εκπομπών (ΟΤΕ) πρέπει να βασίζονται στις Βέλτιστες Διαθέσιμες Τεχνικές (ΒΔΤ). Οι βέλτιστες διαθέσιμες τεχνικές, αποδεικνύουν την πρακτική καταλληλότητα των τεχνικών που εφαρμόζονται προκειμένου να επιτευχθεί η προστασία του περιβάλλοντος και η βιομηχανία να λειτουργεί μέσα στα στενά όρια εκπομπών που έχουν θεσπιστεί.

Ο κανονισμός (ΕΚ) Αριθ. 850/2004 αφορά κυρίως την περιβαλλοντική προστασία και την προστασία της ανθρώπινης υγείας από τους έμμονους οργανικούς ρύπους. Στο πλαίσιο των ευθυνών της για την προστασία του περιβάλλοντος θεσπίστηκε το 1998 το σχετικό με τους έμμονους οργανικούς ρύπους πρωτόκολλο της σύμβασης του 1979 για τη διασυνοριακή ρύπανση της ατμόσφαιρας σε μεγάλες αποστάσεις και στις 22 Μαΐου 2001 τη σύμβαση της Στοκχόλμης.

Οι εκλύσεις έμμονων οργανικών ρύπων που είναι ακούσια παραπροϊόντα βιομηχανικών διεργασιών πρέπει να εντοπίζονται και να περιορίζονται το ταχύτερο δυνατό με απώτερο σκοπό την τελική εξάλειψή τους, όπου τούτο είναι εφικτό. Πρέπει να καταστρωθούν και να εφαρμοστούν κατάλληλα εθνικά σχέδια δράσης, που να καλύπτουν όλες τις πηγές και τα μέτρα, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που προβλέπονται υπό την ισχύουσα κοινοτική νουθεσία, ώστε να περιοριστούν οι εκλύσεις κατά τρόπο συνεχή και οικονομικώς αποδοτικό το ταχύτερο δυνατό. Το περιεχόμενο των αποβλήτων σε έμμονους οργανικούς ρύπους πρέπει να καταστρέφεται ή να μετατρέπεται κατά τρόπο μη αναστρέψιμο σε ουσίες που δεν παρουσιάζουν παρεμφερή χαρακτηριστικά, εκτός εάν είναι προτιμότερος από περιβαλλοντική άποψη άλλος χειρισμός.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΔΙΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΠΟΛΥΧΛΩΡΙΩΜΕΝΩΝ ΔΙΦΑΙΝΥΛΙΩΝ

3.1 Μέθοδοι προσδιορισμού

Η υψηλή τοξικότητα των διοξινών καθιστά απαραίτητο τον προσδιορισμό τους σε διάφορα δείγματα. Λόγω της βιοσυσσώρευσης τους στους λιπώδης ιστούς των οργανισμών γίνεται προσδιορισμός σε περιβαλλοντικά δείγματα όπως αέρα, νερό, τρόφιμα (ψάρια, κοτόπουλα, γάλα) για να γίνει εκτίμηση του βαθμού επικινδυνότητας. [78]

Ο προσδιορισμός PCDD/F και των PCBs περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

- Δειγματοληψία
- Εκχύλιση
- Καθαρισμός από παρεμποδίζουσες ουσίες
- Ποσοτικός προσδιορισμός GC/MS

Οι τεχνικές εκχύλισης για τα τρόφιμα βασίζονται στο ότι τα PCDD/Fs, PCBs είναι λιπόφιλες οργανικές ενώσεις και εμφανίζονται κυρίως στο κλάσμα λίπους του τροφίμου. Οι μέθοδοι εκχύλισης επομένως βασίζονται σε μεθόδους απομόνωσης του λιπιδικού στρώματος από το τρόφιμο. Κατά συνέπεια, η ποσότητα που πρέπει να ληφθεί ως δείγμα δοκιμής εξαρτάται από την απαιτούμενη ευαισθησία και την περιεκτικότητα λίπους του δείγματος. Τα εκχυλίσματα θα πρέπει να αποδώσουν τουλάχιστον λίγα γραμμάρια εκχυλίσματος λιπιδίων για αποδοτικό προσδιορισμό.

Μετά τη πλήρη ομογενοποίηση τα σύνθετα δείγματα (κρέας, φρούτα, λαχανικά, ποτά, κλπ.) ξηραίνονται υπό ψύξη για την απομάκρυνση της περιεκτικότητας σε νερό και αναμειγνύονται με κάποιο οργανικό διαλύτη όπως ακετόνης-πεντανίου ή εκχύλιση Soxhlet παρουσία οργανικών διαλυτών όπως πεντάνιο ή εξάνιο για απομόνωση του κλάσματος λιπιδίων του δείγματος.

Οι μέθοδοι για την απομόνωση των κλασμάτων λιπιδίων από μεμονωμένα προϊόντα διατροφής εξαρτώνται από τον τύπο του δείγματος. Το βούτυρο, τα λίπη και τα έλαια θεωρούνται γενικά ομοιογενές, και κανονικά δεν απαιτούν εκτεταμένες διαδικασίες εκ-

χύλισης. Κατάλληλη ποσότητα δείγματος διαλύεται σε n-εξάνιο ή πετρελαϊκό αιθέρα για την απόκτηση του λίπους.

Δείγματα κρέατος και ιχθύων αρχικά αναμειγνύονται και ομογενοποιούνται, το δείγμα αλέθεται με άνυδρο θειικό νάτριο μέχρι να ληφθεί σκόνη ελεύθερης ροής. Το μείγμα μπορεί να εκχυλιστεί είτε με τεχνικές ανάμειξης, την τεχνική εκχύλισης ψυχρής στήλης ή εκχύλιση Soxhlet.

Το γάλα μπορεί να αποξηραθεί με ψύξη (freeze-dried) ή να ξηραθεί χημικά με άνυδρο θειικό νάτριο, ακολουθούμενο είτε από εκχύλιση Soxhlet με οργανικό διαλύτη είτε σε εκχύλιση υγρού-υγρού που αποτελείται από ανάμιξη με οξαλικό νάτριο και αιθανόλη ή μεθανόλη, ακολουθούμενη από (επαναλαμβανόμενα) στάδια εκχύλισης με συνδυασμό οργανικών διαλυτών όπως ακετόνη και πεντάνιο.

Τα λαχανικά έχουν συνήθως υψηλή περιεκτικότητα σε νερό και θα αφυδατωθούν πριν από την ανάλυση, εκτός εάν εκχυλιστούν αμέσως μετά τη δειγματοληψία. Η φυτική ύλη συνθλίβεται, τεμαχίζεται και ξεραίνεται με ήπια μέθοδο στους 40-50°C πριν την αποθήκευση και ανάλυση. [79]

Τα υδάτινα δείγματα διατηρούνται στο σκοτάδι στους 0-4°C από τη στιγμή της συλλογής μέχρι την παραλαβή στο εργαστήριο. Εάν υπάρχει υπολειμματικό χλώριο σε υδατικά δείγματα, προστίθεται 80mg θειοθειικού νατρίου ανά λίτρο νερού. Εάν το δείγμα pH είναι μεγαλύτερο από 9, ρυθμίζεται σε pH 7-9 με θειικό οξύ.

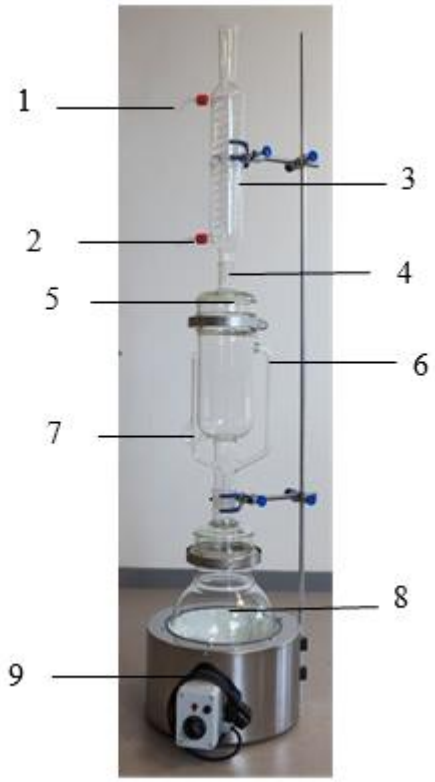
Τα στερεά, ημιστερεά, λιπαρά και μικτών φάσεων δείγματα αποθηκεύονται στο σκοτάδι στους <4°C από τη στιγμή της συλλογής μέχρι την παραλαβή στο εργαστήριο.

Τα ιχθυρά αφού καθαριστούν φιλεταρίζονται και τυλίγονται σε αλουμινόχαρτο και πρέπει να διατηρούνται σε θερμοκρασία μικρότερη από 4°C από τη στιγμή της συλλογής μέχρι την παραλαβή στο εργαστήριο. Όλα τα δείγματα πριν ξεκινήσει η ανάλυση αφήνονται στον πάγκο μέχρι να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου. [80]

3.2 Εκχύλιση

3.2.1 Σύστημα εκχύλισης Soxhlet για στερεά δείγματα

Η διαδικασία εκχύλισης Soxhlet εξασφαλίζει άμεση επαφή του δείγματος με τον διαλύτη εκχύλισης και γίνεται με χρήση της συσκευής εκχύλισης Soxhlet (Εικόνα 6). Αυτή η μέθοδος απομονώνει και συγκεντρώνει υδατοδιαλυτές και ελαφρώς υδατοδιαλυτές οργανικές ενώσεις (όπως οι διοξίνες και τα PCBs) προετοιμάζοντας αυτές τις ενώσεις για την επακόλουθη HRGC/HRMS Χρωματογραφική ανάλυση. [81]



Εικόνα 6: Συσκευή Soxhlet

1. είσοδος νερού
2. έξοδος νερού
3. ψυκτήρας
4. φύσιγγα εκχυλίσεως με την εκχυλιζόμενη ουσία
5. σωλήνας εκχύλισης Soxhlet (εκχυλιστήρας)

6. πλευρικός σωλήνας για το πέρασμα των ατμών
7. σωλήνας για το σιφωνισμό
8. σφαιρική φιάλη όπου τοποθετείται ο διαλύτης εκχυλίσεως
9. θερμομανδίας

Αν οι επιθυμητές ουσίες είναι λίγο διαλυτές, τότε ο διαχωρισμός τους από τα υπόλοιπα αδιάλυτα συστατικά του μίγματος γίνεται με χρήση της συσκευής Soxhlet, η οποία λειτουργώντας κατά τρόπο συνεχή εκχυλίζει μεγάλες ποσότητες ουσιών με μικρή σχετικά ποσότητα διαλύτη.

Η σφαιρική φιάλη (υποδοχέας) περιέχει τον διαλύτη ενώ η ουσία που θα εκχυλιστεί τοποθετείται στον εκχυλιστήρα μέσα σε ειδική φύσιγγα από διηθητικό χαρτί. Ο διαλύτης θερμαίνεται μέχρι βρασμού, οι ατμοί του συμπυκνώνονται στον ψυκτήρα και πέφτουν υπό μορφή σταγόνων μέσα στη φύσιγγα διαλύοντας ένα μέρος της ουσίας. Όταν ο διαλύτης φτάσει στο ανώτερο άκρο του σιφωνίου προκαλεί σιφωνισμό και επιστρέφει στον υποδοχέα. Με τον τρόπο αυτό μεταφέρεται συνεχώς ποσότητα της ουσίας από τον εκχυλιστήρα στον υποδοχέα. [82]

Ακολουθείται η παρακάτω πορεία, ζυγίζεται ορισμένη ποσότητα δείγματος, αφού τεμαχιστεί και πολτοποιηθεί γίνεται ανάμειξη δείγματος με ποσότητα θεϊκού νατρίου σε ποτήρι ζέσεως. Κάλυψη με αλουμινόχαρτο και αφήνουμε σε ισορροπία για 12-24 ώρες. Ανακατεύουμε πριν την εκχύλιση για να αποφευχθούν τα συσσωματώματα. Ακολουθεί η εισαγωγή του σωλήνα στο reflux flask. Το μείγμα δείγματος/θειικού νατρίου μεταφέρεται στη φύσιγγα συσκευής Soxhlet. Ξεπλένουμε το ποτήρι με μερικές δόσεις διαλύματος και γεμίζουμε τη φύσιγγα με αυτό και στη συνέχεια προστίθενται τα διαλύματα εσωτερικών προτύπων. Η εκχύλιση διαρκεί 18-24 ώρες. Όταν τελειώσει η εκχύλιση ψύχουμε και αποσυναρμολογούμε τη συσκευή. Μεταφέρουμε το εκχύλισμα σε φούρνο (macro-concentration device) και συμπυκνώνουμε σχεδόν μεχρι ξηρού. Αφότου κρυώσει ξαναζυγίζεται και αφαιρείται το βάρος ώστε να υπολογιστεί το λίπος. [80]

3.2.2 Υγρή-υγρή εκχύλιση για υγρά και ημιστερεά δείγματα

Η μέθοδος στηρίζετε στο διαχωρισμό ενώσεων με βάση τη διαλυτότητα σε δυο διαφορετικά μη αναμίξιμα υγρά συνήθως νερό (πολικό) και ένα οργανικό διαλύτη (μη πολικός). [83]

Γίνεται ζύγιση ποσότητας δείγματος σε διαχωριστική χοάνη (Εικόνα 7), προσθήκη εσωτερικού προτύπου και ανακίνηση της χοάνης. Μια από τις φάσεις θα είναι υδατική και η άλλη ένας οργανικός διαλύτης όπως κατάλληλος αιθέρας. Έπειτα γίνετε συνεχή ανακίνηση και εκτόνωση της χοάνης ώστε να δραπετεύσουν οι ατμοί των διαλυτών. Το δείγμα αφήνετε σε ηρεμία για να επέλθει ο διαχωρισμός των φάσεων.

Τα υγρά σχηματίζουν δυο ξεχωριστά στρώματα, το υγρό χαμηλότερης πυκνότητας θα παραμείνει επάνω από το υγρό υψηλότερης πυκνότητας, έτσι το μείγμα διαλυτών σχηματίζουν δυο διαφορετικά διαλύματα. Η βαλβίδα ανοίγει και συλλέγετε η υδατική φάση (κάτω φάση) η οποία απορρίπτετε, η οργανική φάση (άνω φάση) συλλέγετε σε σφαιρική φιάλη. Χρησιμοποιείται ποσότητα άνυδρου θειικού νατρίου για την απομάκρυνση ανεπιθύμητων ιχνών από την οργανική φάση. Στη συνέχεια, ο διαλύτης συμπυκνώνετε και εισάγετε σε φούρνο για την απομάκρυνση όλης της υγρασίας. Αφότου κρυώσει, ξαναζυγίζεται και αφαιρείται το βάρος της ώστε να υπολογιστεί το λίπος. [84]

Εικόνα 7: Διαχωριστική χοάνη, η οργανική φάση (άνω φάση) έχει μικρότερη πυκνότητα από την υδατική φάση (κάτω φάση). Η κάτω φάση απορρίπτεται ενώ η άνω συλλέγεται σε σφαιρική φιάλη

3.3. Καθαρισμός από παρεμποδίζουσες ουσίες

3.3.1 Χρωματογραφία στήλης πηκτής πυριτίας (Silica gel)

Παραλαβή PCBs

Η γυάλινη στήλη είναι γεμάτη με την απαιτούμενη ποσότητα απορροφητικού μέσου συμπληρώνεται μέσο που απορροφά το νερό (water absorbent). Από το στερεό υπόλειμμα που συλλέχθηκε κατά το τελικό στάδιο της εκχύλισης Soxhlet, χωρίζεται ποσότητα λίπους και διαλύεται με εξάνιο. Το δείγμα που θα αναλυθεί εισάγεται στη στήλη για έκλουση της ουσίας που βρίσκεται υπό ανάλυση αυτό επιτυγχάνεται με έναν κατάλληλο διαλύτη (Hex) που αφήνει τις παρεμποδίζουσες ουσίες στη στήλη. Το έκλουσμα συλλέγεται και ο διαλύτης συμπυκνώνεται (εάν είναι απαραίτητο). [85]

3.3.2. Χρωματογραφία στήλης οξειδίου του αργιλίου (Alumina)

Παραλαβή non-ortho PCBs

Σε μία γυάλινη στήλη προστίθενται H_2SO_4-silica gel και alumina. Το στερεό υπόλειμμα που συλλέχθηκε από το τελικό στάδιο της εκχύλισης άνθρακα, διαλύεται σε εξάνιο. Η στήλη alumina ξεπλένεται δυο φορές με εξάνιο και στη συνέχεια τα non-ortho PCB εκλούονται με μείγμα εξανίου/διχλωρομεθανίου (1:1 v/v). Τέλος, το έκλουσμα συλλέγεται και οι διαλύτες συμπυκνώνονται και επαναδιαλύεται σε τολουόλιο με πρότυπο ανάκτησης $^{13}C_{12}$ PCB-80.

Παραλαβή PCDD και PCDF

Το υπόλειμμα που περιέχει τα PCDD/F διαλύθηκε σε εξάνιο και το μείγμα μεταφέρθηκε σε μια στήλη που περιείχε H_2S0_4-silicagel και alumina. Η στήλη alumina ξεπλύθηκε δύο φορές με εξάνιο και μετά πλύθηκε με μείγμα εξανίου/διχλωρομεθανίου (93:7 v/v). Αυτό το έκλουσμα απορρίφθηκε. Τα PCDDs και τα PCDF εκλούστηκαν με

μείγμα εξανίου/διχλωρομεθανίου (60:40 ν/ν). Τέλος, το έκλουσμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού και επαναδιαλύεται σε τολουόλιο που περιείχε πρότυπο ανάκτησης $^{13}C_{12}$1,2,3,4-TCDD. [86]

3.3.3. Χρωματογραφία στήλης πυριτικού μαγνησίου (Florisil)

Διαχωρισμός οργανοχλωριδίων από PCBs

Χρησιμοποιείται γυάλινη χρωματογραφική στήλη με ενσωματωμένο Florisil ή φυσίγγια εκχύλισης στερεάς φάσης που περιέχουν Florisil. Για το διαχωρισμό οργανοχλωριδίων από PCBs, προσθέτουμε hexane στο φυσίγγιο, ενεργοποιείται την αντλία κενού και αφήνετε ο διαλύτης να εμποτίσει το απορροφητικό μέσο για 1 λεπτό ή λιγότερο. Ανοίγεται αργά η βαλβίδα της φύσιγγας και συλλέγεται το έκλουσμα μέσα στο φιαλίδιο συλλογής. Αυτό είναι το κλάσμα 1 και περιέχει PCBs και μερικά οργανοχλωριούχα. Κλείνεται η βαλβίδα και αντικαθιστάται το φιαλίδιο συλλογής και προστίθεται μεθυλενοχλωρίδιο/εξάνιο (26/74, ν/ν) στο φυσίγγιο. Ανοίγετε αργά τη βαλβίδα φυσιγγίου και συλλέγετε το έκλουσμα στο φιαλίδιο συλλογής. Αυτό είναι το κλάσμα 2 και αυτό θα περιέχει τα περισσότερα από τα οργανοχλωρίδια. Κλείστε τη βαλβίδα φυσιγγίου, αντικαταστήστε τα φιαλίδια συλλογής και προσθέστε ποσότητα ακετόνης/εξανίου (10/90, ν/ν) στο φυσίγγιο. Ανοίξτε αργά τη βαλβίδα φυσιγγίου και συλλέγεται το έκλουσμα στο φιαλίδιο συλλογής. Αυτό είναι το κλάσμα 3 και θα περιέχει τα υπόλοιπα οργανοχλωρίδια. [87]

3.3.4. Χρωματογραφία στήλης και εκχύλιση ενεργού άνθρακα (Activated carbon)

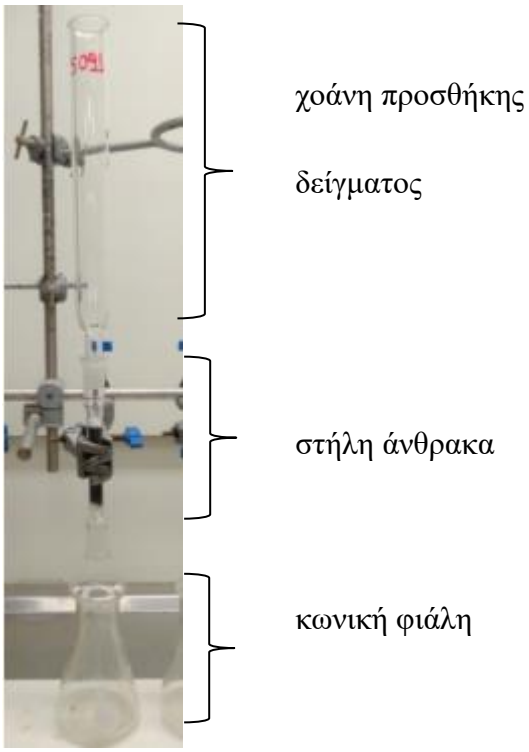
Παραλαβή non-ortho PCBs

Το υπόλειμμα του δείγματος διαλύθηκε σε διχλωρομεθάνιο και μεταφέρεται στην κορυφή μιας στήλης άνθρακα. Η στήλη άνθρακα εισάγεται στο reflux unit και εκχυλίζεται για 2 ώρες με διχλωρομεθάνιο. Ότι συλλεχθεί απορρίπτεται στα απόβλητα καθώς περιέχει ίχνη υπολειπόμενου λίπους. Στη συνέχεια η στήλη ξεπλένεται με τολουόλιο και

εκχυλίζεται με τολουόλιο για 40 λεπτά. Το μέρος αυτό του διαλύματος που περιέχουν τα non-ortho PCB συμπυκνώνεται σε περιστροφικό εξατμιστήρα και μετά εξατμίζεται μέχρι ξηρού.

Παραλαβή PCDD/Fs

Στη συνέχεια η στήλη άνθρακα αναστρέφεται και επανατοποθετείται στο reflux unit τα PCDD/F εκλούονται απ τη στήλη με εκχύλιση με τολουόλιο για 16 ώρες. Συλλογή του εκχυλίσματος που περιέχει τα PCDD/Fs. Τα PCDD/F συμπυκνώνονται και ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη στον περιστροφικό εξατμιστήρα μέχρι ξηρού. [86]



Εικόνα 8: Σύστημα χρωματογραφίας άνθρακα

3.4. Ενόργανη ανάλυση για τον προσδιορισμό m.o PCB, n.o PCB και PCDD/Fs

Σκοπός και εφαρμογή

Οι US EPA προτείνουν για τον τελικό προσδιορισμό των υπό ανάλυση ουσιών την τεχνική της ισοτοπικής αραίωσης (Method 1613, 1994) η μέθοδος EPA 1613 σε δείγματα νερού, εδάφους, ιζήματα, λυματολάσπης, απόβλητα, τέφρα, τρόφιμα, ζωοτρο-

φές, αίμα και ιστούς χρησιμοποιείται, για τον προσδιορισμό συγκεκριμένων ισομερών 2,3,7,8-υποκατεστημένων τετρα έως οκτα χλωριωμένων διβενζο-π-διοξινών και διβενζο-φουρανίων με την τεχνική της υψηλής ανάλυσης αέρια χρωματογραφία /φασματομετρία μάζας υψηλής ανάλυσης (HRGC/HRMS). (Εικόνα 9) [80]

Περιγραφή διαδικασίας

Στην HRGC/HRMS ανάλυση εισάγεται δείγμα όγκου 1-2 μl με μικροσύριγγα στη βαλβίδα εισαγωγής δείγματος στην κορυφή της στήλης του αέριου χρωματογράφου. Από μια φιάλη υψηλής πίεσης διαχέεται το φέρον αέριο που πρέπει να είναι αδρανές και συνήθως είναι το ήλιο, μέσα από ειδικές βαλβίδες πίεσης και ροόμετρα υπό την απουσία οξυγόνου προς τη χρωματογραφική στήλη. [88]

Η στήλη βρίσκεται μέσα σε ένα φούρνο και μετατρέπει το υγρό δείγμα σε αέριο ο διαλύτης απομακρύνεται και η υπό μελέτη ουσία εισέρχεται στη στήλη με τη βοήθεια του φέρον αερίου. Καθώς τα μόρια διέρχονται από τη στήλη, αλληλεπιδρούν με το υλικό της στατικής φάσης με αποτέλεσμα κάποια να καθυστερούν να τη διαπεράσουν καθώς ορισμένα προσδένονται δυνατά ενώ άλλα λιγότερο. Επειδή λοιπόν συμπεριφέρονται διαφορετικά μέσα στη στήλη, όταν φτάσουν στην άκρη της, θα βγουν σε διαφορετικούς χρόνους (χρόνος πτήσης).

Η στήλη είναι τριχοειδής (capillary columns), φτιαγμένη από κεραμικό γυαλί, μήκους 60 μέτρων και διαμέτρου 0.250mm, ενώ είναι επιστρωμένη με τη στατική φάση και κινητή φάση το φέρον αέριο και το πλέον αέριο δείγμα. Για να είναι δυνατή η τοποθέτηση τους στο φούρνο για θερμοστάτηση, συνήθως έχουν τη μορφή σπειράματος διαμέτρου 10 έως 30 cm. Η βέλτιστη θερμοκρασία της στήλης εξαρτάται από το σημείο βρασμού του δείγματος και τον απαιτούμενο βαθμό διαχωρισμού, ο βέλτιστος διαχωρισμός προϋποθέτει εφαρμογή της ελάχιστης δυνατής θερμοκρασίας, χαμηλή θερμοκρασία οδηγεί σε αύξηση του χρόνου έκλουσης και επομένως καθυστέρηση ολοκλήρωσης της μέτρησης.

Στη συνέχεια τα μόρια εισέρχονται στο δεύτερο μέρος του χρωματογράφου που περιλαμβάνει το φασματογράφο μάζας όπου πραγματοποιείται βομβαρδισμός με ηλεκτρόνια υψηλής ενέργειας με τη χρήση μιας διάταξης που ονομάζετε παγίδα ιόντων (ion trap), αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη πρόσκρουση των ηλεκτρονίων με τα μόρια που εισέρχονται στο φασματογράφο (Electron impact, EI) από τη πρόσκρουση παράγονται θετικά

ιόντα. Αυτά τα ιόντα, μετακινούνται στην άλλη άκρη του φασματογράφου με τη βοήθεια αρνητικών δυναμικών που τα εκλύουν, αποκτώντας μία κινητική ταχύτητα ανάλογα με το λόγο μάζας/φορτίο (m/z).

Τα επιταχυνθέντα ιόντα εισέρχονται στο χώρο του μαγνητικού αναλυτή (πόλοι ενός ισχυρού μαγνήτη) για τον τελικό διαχωρισμό τους ανάλογα με το μοριακό τους βάρος. Ο μαγνητικός αναλυτής είναι ένα σύστημα ισχυρών μαγνητών που το μαγνητικό του πεδίο διαπερνά το διάδρομο της πορείας των μοριακών και άλλων ιόντων προς μαγνητικό διαχωρισμό. Συνήθως ο μαγνήτης σχηματίζει τοπικό μαγνητικό πεδίο σε σχήμα ανοιχτής βεντάλιας με γωνία 60° ή 90°, που έχει την ικανότητα να εκτρέπει τα θετικά ιόντα προς τον συλλέκτη.

Στο τέλος του μαγνήτη βρίσκεται ένας φωτοπολλαπλασιαστής (Photomultiplier tube, PMT) πρόκειται για ένα ανιχνευτή στον οποίο όταν ένα ιόν πέσει στη επιφάνεια του απελευθερώνονται ηλεκτρόνια ανάλογα με τη ποσότητα των ιόντων που εξαρτάται από το λόγο μάζας, φορτίου (m/z).

Ο ενισχυτής του εν λόγω φασματόμετρου μαζών είναι ο ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστής (Electron multiplier). Τα ιόντα που εξέρχονται προσπίπτουν σε δύνοδο μετατροπής και εκπέμπονται δευτερογενή ηλεκτρόνια. Στους ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστές διακριτών δυνόδων κάθε δύνοδος βρίσκεται σε υψηλότερο δυναμικό από την προηγούμενη. Ιόντα, τα οποία προσκρούουν στην επιφάνεια κοντά στην είσοδο, εκβάλλουν ηλεκτρόνια, τα οποία στη συνέχεια, αναπηδούν κατά μήκος της επιφάνειας, προκαλώντας την αποδέσμευση περισσότερων ηλεκτρονίων μετά από κάθε πρόσκρουση. Οι ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστές παρέχουν υψηλή ενίσχυση του ρεύματος, της τάξης των 10^5-10^7.

Τέλος τα σήματα των ιόντων καταγράφονται σε ένα καταγραφικό σύστημα που συνδέεται με υπολογιστή στο οποίο μέσω ενός ειδικού λογισμικού επεξεργασίας και ποσοτικοποίησης εκφράζονται τα αποτελέσματα σε μορφή χρωματογραφήματος. [89], [90], [91]

Εικόνα 9: Φασματόμετρο αέριας χρωματογραφίας-μάζας υψηλής ανάλυσης

3.5. Ανοσοχημικοί προσδιορισμοί (Immunoassays)

Η χρονοβόρα και ακριβή διαδικασία ανίχνευσης αυτών των ρύπων καθώς και η απαίτηση εξειδικευμένου προσωπικού οδήγησε στην ανάγκη αναζήτησης εναλλακτικών τρόπων προσδιορισμού, μερικοί από αυτούς περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω. Οι ανοσοχημικοί προσδιορισμοί βασίζονται στην ειδική σύνδεση αντιγόνου (Antigen, Ag) που είναι το μόριο στόχος (target molecule) και αντισώματος που είναι το (Antibody, Ab) και είναι ευαίσθητο στο μόριο στόχο. Αντιγόνο θεωρείται κάθε μόριο που έχει την ικανότητα να συνδεθεί με ένα αντίσωμα.

Στην περίπτωση των PCBs το αντίσωμα αναγνωρίζει και τα 209 συγγενή PCB αλλά με διαφορετική ένταση. Επιπλέον, άλλες ενώσεις θα μπορούσαν επίσης να αλληλεπιδράσουν με το αντίσωμα προκαλώντας θετική απόκριση της χημικής δοκιμής, για ένα θετικό αποτέλεσμα της ανοσοχημικής δοκιμασίας απαιτείτε συνεπώς να εφαρμοστεί μια επιβεβαιωτική μέθοδος, όπως το GC-MS. Οι ανοσοχημικοί προσδιορισμοί έχουν αποδειχθεί ευαίσθητοι, ακριβής και οικονομικά αποδοτικά αναλυτικά εργαλεία για την ανίχνευση πολλών περιβαλλοντικών ρύπων όπως οι διοξίνες και τα PCBs. [92]

3.5.1. Βιοαισθητήρες (Biosensors)

Πρόσφατα έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι βασισμένοι στην τεχνολογία βιοαισθητήρων. Πολλά από αυτά βασίζονται στην αλληλεπίδραση των ΗΑΗ με ειδικά αντισώματα ακινητοποιημένα σε ανιχνευτές, τα οποία μετατρέπουν τις φυσικοχημικές αλλαγές που προκύπτουν από την αλληλεπίδραση αντιγόνου-αντισώματος σε ηλεκτροχημικά σήματα, στη συνέχεια μεταδίδονται σε έναν ανιχνευτή. Αν και δεν έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως έχουν τη δυνατότητα να παρέχουν συνεχή δεδομένα σε πραγματικό χρόνο για τις συγκεντρώσεις ΗΑΗ στο περιβάλλον. [93]

Βιοαισθητήρας είναι ένας αυτόνομος αισθητήρας ικανός να παρέχει ποσοτικές ή ημιποσοτικές πληροφορίες χρησιμοποιώντας ένα στοιχείο βιολογικής αναγνώρισης που βρίσκεται σε άμεση χωρική επαφή με ένα κατάλληλο μεταλλάκτη. Ένας βιοαισθητήρας είναι σε μία αναλυτική διάταξη που αποτελείται από ένα βιοστοιχείο, το οποίο αναγνωρίζει τους μολυσματικούς στόχους και ένα μεταλλάκτη που μετατρέπει μία βιολογική ή βιοχημική αναγνώριση του υποστρώματος (αναλυτή) σε ηλεκτρικό σήμα. Ταξινομούνται με βάση τους παράγοντες βιοαναγνώρισης που χρησιμοποιούνται, αυτοί μπορεί να είναι ένζυμα, αντισώματα, DNA, ολόκληρα κύτταρα ή άλλοι βιολογικοί υποδοχείς. Μερικοί από αυτούς τους παράγοντες βιοαναγνώρισης έχουν μελετηθεί για τον προσδιορισμό των διοξινών και των PCB. [94]

3.5.2. ELISA

Η τεχνική της ενζυμοσύνδετης ανοσοπροσροφητικής μέτρησης (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

Το ELISA βασίζεται σε συγκεκριμένη αντίδραση μεταξύ διοξινών και των αντισωμάτων τους. Οι τεχνικές ELISA που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση διοξινών είναι η έμμεση ELISA ανταγωνιστικού/συναγωνιστικού τύπου και η άμεση ELISA ανταγωνιστικού/συναγωνιστικού τύπου.

Η βασική αρχή του ανταγωνιστικού τύπου ELISA είναι ότι οι διοξίνες στα περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα (περιέχουν το αντιγόνο) ανταγωνίζονται με ενζυμοσυζευγμένο αντίσωμα για δέσμευση σε αντίσωμα εναντίον μιας συγκεκριμένης κατηγορίας διοξίνης που ακινητοποιείται σε μια μικρόπλακα. Με την προσθήκη υποστρώματος και με μέτρηση της απορρόφησης είναι δυνατόν, να μετρηθεί η συγκέντρωση του αντιγόνου στο δείγμα. Η απορρόφηση είναι αντιστρόφως ανάλογη με την ποσότητα διοξινών που υπάρχει στα δείγματα. Οι συγκεντρώσεις των διοξινών στο δείγμα υπολογίζονται με σύγκριση με μια καμπύλη αναφοράς που δημιουργείται με την προσθήκη γνωστών ποσοτήτων πρότυπης διοξίνης.

Η ELISA έμμεσου συναγωνιστικού τύπου βασίζεται στον ανταγωνισμό μεταξύ διοξινών στα δείγματα και αντιγόνων ακινητοποιημένων σε μικρόπλακα για σύνδεση με αντισώματα που αναγνωρίζουν μια συγκεκριμένη κατηγορία διοξίνης. Μετά το πλύσιμο για την απομάκρυνση των διαλυτών συμπλοκών αντιγόνου-αντισώματος, το αντίσωμα που συνδέεται με το αντιγόνο στην πλάκα στη συνέχεια επωάζει με δευτερογενές αντίσωμα συζευγμένο με ένα ένζυμο το οποίο αντιδράει με υπόστρωμα και δίνει τιμή απορρόφησης. Όπως και στη περίπτωση της άμεσης ELISA τα επίπεδα διοξίνης στα δείγματα μπορούν να μετρηθούν με σύγκριση με πρότυπη καμπύλη διοξίνης. [95]

Εικόνα 10: Elisa Test kit για ανάλυση διοξίνης

3.5.3 Ραδιοϊσοτοπικοί ανοσοπροσδιορισμοί (RIA)

Συγκεκριμένη μικρή ποσότητα επισημασμένου αντιγόνου (radiolabelled standard antigens, *Ag) και το περιεχόμενο στο δείγμα αντιγόνο Ag (unlabeled sample antigens, Ag) ανταγωνίζονται για την κάλυψη περιορισμένου αριθμού θέσεων δέσμευσης του ειδικού αντισώματος Ab και σχηματίζουν σύμπλοκα κατά το γενικό σχήμα:

*Ag + Ag + Ab = *Ag Ab + Ag Ab

Όταν η αντίδραση δέσμευσης επιτυγχάνει δυναμική ισορροπία, εάν αυξηθεί η ποσότητα Ag, αυξάνεται η ποσότητα Ag-Ab, ενώ *Ag-Ab μειώνεται και αυξάνονται τα ελεύθερα Ag. Δηλαδή η μάζα του Ag είναι αντιστρόφως ανάλογη με τη μάζα των επισημασμένων συμπλεγμάτων. Έτσι, αφού διαχωριστούν με την εφαρμογή κατάλληλης τεχνικής οι ελεύθερες μορφές (Ag* και Ag) από τα συμπλέγματα (Ag*Ab και AgAb) και μετρηθεί το αναλυτικό σήμα που φέρει το επισημασμένο αντιγόνο *Ag, είτε στην ελεύθερη, είτε στην δεσμευμένη μορφή, μπορεί να συσχετιστεί με την συγκέντρωση του αντιγόνου στο δείγμα. [95], [96]

3.6 Βιολογική δοκιμασία (Bioassays)

In vivo bioassays

Οι *in vivo* βιολογικές δοκιμασίες αφορούν τη σκόπιμη μόλυνση ολόκληρων οργανισμών (πειραματόζωα) με ρύπους ή μολυσμένα υλικά, αυτό μπορεί να συμβεί σε εργαστηριακό επίπεδο. Τέτοιες δοκιμασίες έχουν το πλεονέκτημα της μέτρησης ολοκληρωμένης δράσης σε επίπεδο ολόκληρου οργανισμού. Επιπλέον, οι *in vivo* δοκιμασίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας των μολυσματικών ουσιών σε περιβαλλοντικά δείγματα.

In vitro bioassays

Ολοένα και περισσότερο οι βιολογικές δοκιμασίες που χρησιμοποιούν καλλιέργειες κυττάρων ή κυτταρικά εκχυλίσματα αναπτύσσονται και χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση της παρουσίας μολυσματικών ουσιών. Πολλές φορές έχουν βάση τον μηχανισμό που εξαρτάται από το AhR, τη ενζυμική αναστολή ή αλλαγές στην έκφραση γονιδίων σε καλλιέργειες κυττάρων [97] για τη μέτρηση μίας συγκεκριμένης απόκρισης όπως δέσμευση στο AhR. Έχει αποδειχθεί ότι για τα PCB, PCDDs και PCDFs, υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ της *in vitro* δραστικότητας ως πρόκλησης της δράσης AHH σε κύτταρα H4IIE και της τοξικότητάς τους σε πολλά είδη ζώων.

Τέτοιοι *in vitro* βιολογικοί προσδιορισμοί έχουν πολλά πλεονεκτήματα έναντι των *in vivo* τεχνικών, συμπεριλαμβανομένης της ταχύτητας, του χαμηλού κόστους, και βιολογική δηλ. μηχανική εξειδίκευση.

3.7 Βιοδείκτες (Biomarkers)

Παρόλο που η *in vivo* δοκιμασία είναι ακριβότερη και χρονοβόρα σε σχέση με τη *in vitro* δοκιμασία περιλαμβάνει μερικές σημαντικές διαδικασίες όπως φαρμακοκινητική, μεταβολισμό και αλληλεπιδράσεις με πρωτεΐνες δέσμευσης και μεταφοράς που επηρεάζουν τη πρόσληψη σε συγκεκριμένα όργανα. Διαφορετικοί βιοδείκτες (όπως ενζυμική δραστηριότητα) για ενώσεις που μοιάζουν με διοξίνες εμφανίζονται για κάθε βιολογικό επίπεδο (π.χ. μόρια, κύτταρα, όργανα, άτομα, πληθυσμός, οικοσύστημα). Κατάλληλοι βιοδείκτες για ενώσεις που μοιάζουν με διοξίνη είναι η συσσώρευση της ηπατικής πορφυρίνης, μειωμένα επίπεδα της ηπατικής βιταμίνης Α. Καθώς και η δραστηριοποίηση των ηπατακατανιλίδιου-4-υδροξυλάσης, των CYP1A1, AHH, EROD και συγκεκριμένων ενζύμων. [93], [97]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

4.1 Βασικές απαιτήσεις για την αποδοχή των διαδικασιών ανάλυσης

Υψηλή ευαισθησία και χαμηλά όρια ανίχνευσης. Όσον αφορά τα PCDDs και τα PCDFs, το όριο ανίχνευσης πρέπει να είναι της τάξης των πικογραμμαρίων (picogram, pg) TEQ (10-12g) εξαιτίας της σημαντικής τοξικότητας ορισμένων από τις ενώσεις αυτές. Γνωρίζουμε ότι τα PCBs εμφανίζονται σε υψηλότερα επίπεδα από ότι τα PCDDs και τα PCDFs. Για τις περισσότερες ομοειδείς ουσίες PCBs, η ευαισθησία στο φάσμα των νανογραμμαρίων (nanogram, ng) (10-9 g) είναι ήδη επαρκής. Ωστόσο, για τη μέτρηση των πιο τοξικών παρόμοιων με τις διοξίνες ομοειδών ουσιών PCBs (ιδίως των μη-ορθο υποκατεστημένων ομοειδών ουσιών) (non,-ortho substituted congeners) πρέπει να επιτυγχάνεται η ίδια ευαισθησία όπως και για τα PCDDs και τα PCDFs.

Υψηλή εκλεκτικότητα (εξειδίκευση). Τα PCDDs, τα PCDFs και τα παρόμοια με τις διοξίνες PCBs πρέπει να διακρίνονται από τις άλλες ενώσεις, που εκχυλίζονται μαζί και οι οποίες πιθανώς (οι ενώσεις που παρεμποδίζουν) να παρευρίσκονται σε συγκεντρώσεις έως και ορισμένες τάξεις μεγέθους υψηλότερες από εκείνες των προς ανάλυση ουσιών που ενδιαφέρουν. Για τις μεθόδους αέριας χρωματογραφίας/φασματομετρίας μάζας (GC/MS) είναι αναγκαία μια διαφοροποίηση μεταξύ των διαφόρων ομοειδών ουσιών, όπως μεταξύ των τοξικών (π.χ. των δεκαεπτά 2,3,7,8-υποκατέστημένων PCDD και PCDF και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs) και των άλλων ομοειδών ουσιών. Οι βιολογικές δοκιμασίες πρέπει να είναι σε θέση να προσδιορίζουν τις τιμές TEQ επιλεκτικά ως το άθροισμα των PCDDs, των PCDFs και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs.

Υψηλή ακρίβεια (ορθότητα και πιστότητα). Ο προσδιορισμός πρέπει να παρέχει μια έγκυρη εκτίμηση της αληθούς συγκέντρωσης σε ένα δείγμα. Η υψηλή ακρίβεια (ακρίβεια της μέτρησης: η εγγύτητα της συμφωνίας μεταξύ του αποτελέσματος της μέτρησης και της αληθούς ή αποδοθείσας τιμής του μετρητέου) είναι αναγκαία για να αποφευχθεί η απόρριψη του αποτελέσματος της ανάλυσης του δείγματος που ελήφθη βάση μη επαρκούς αξιοπιστίας (poor reliability) για την εκτίμηση του TEQ. Η ακρίβεια εκφράζεται ως ορθότητα (διαφορά μεταξύ της μέσης τιμής που μετρήθηκε για μια αναλυτέα ου-

σία σε ένα πιστοποιημένο υλικό και της πιστοποιημένης τιμή της, εκφρασμένη ως ποσοστό της τιμής αυτής) και πιστότητα (η πιστότητα συνήθως υπολογίζεται ως τυπική απόκλιση, συμπεριλαμβανομένων της επαναληψιμότητας και αναπαραγωγιμότητας, και προσδιορίζει την εγγύτητα της συμφωνίας μεταξύ των αποτελεσμάτων που ελήφθησαν με την εφαρμογή της πειραματικής διαδικασίας αρκετές φορές υπό προκαθορισμένες συνθήκες).

Οι αναλυτικές μέθοδοι διαλογής μπορούν να περιλαμβάνουν βιολογικές δοκιμασίες και μεθόδους GC/MS. Οι μέθοδοι επιβεβαίωσης είναι μέθοδοι υψηλής ευκρίνειας αέριας χρωματογραφίας/υψηλής ευκρίνειας φασματομετρίας μάζας (HRGC/HRMS).

4.1.1 Ειδικές απαιτήσεις για μεθόδους GC/MS που πρέπει να τηρούνται

Η προσθήκη εσωτερικών προτύπων PCDD/F υποκατεστημένων με χλώριο στις θέσεις 2,3,7,8 με ισοτοπική επισήμανση 13C (και των εσωτερικών προτύπων των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs με ισοτοπική επισήμανση 13C, αν πρόκειται να προσδιοριστούν παρόμοια με τις διοξίνες PCBs) πρέπει να πραγματοποιηθεί πολύ νωρίς στην αρχή ή κατά την έναρξη της μεθόδου ανάλυσης, δηλαδή πριν από την εκχύλιση προκειμένου να επικυρωθεί η αναλυτική διαδικασία.

Τουλάχιστον μια ομοειδής ουσία για καθεμία από τις ομόλογες ομάδες PCDD/F των τετρα- έως οκτα-χλωριωμένων ομόλογων ομάδων (και τουλάχιστον μια ομοειδής ουσία και για καθεμία από τις ομόλογες ομάδες των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB, αν πρόκειται να προσδιοριστούν παρόμοια με διοξίνες PCB) πρέπει να προστεθεί [εναλλακτικά, τουλάχιστον μια ομοειδής ουσία για κάθε ομάδα ιόντων για φασματοσκοπία μάζας καταγραφής επιλεγμένων ιόντων που χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCBs]. Υπάρχει σαφής προτίμηση, ιδίως στην περίπτωση των μεθόδων επιβεβαίωσης, στη χρησιμοποίηση και των δεκαεπτά εσωτερικών προτύπων PCDD/F υποκατεστημένων με χλώριο στις θέσεις 2,3,7,8 με ισοτοπική επισήμανση 13C και του συνόλου των δώδεκα εσωτερικών προτύπων των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB με ισοτοπική επισήμανση 13C (αν πρόκειται να προσδιοριστούν παρόμοια με διοξίνες PCB).

Για τα τρόφιμα φυτικής προέλευσης και τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης που περιέχουν λιγότερο από 10% λίπος, η προσθήκη των εσωτερικών προτύπων είναι υποχρεωτική πριν από την εκχύλιση. Για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης που περιέχουν περισσότερο από 10% λίπος, τα εσωτερικά πρότυπα μπορούν να προστεθούν είτε πριν από την εκχύλιση είτε μετά την εκχύλιση του λίπους. Πρέπει να πραγματοποιηθεί κατάλληλος έλεγχος αξιοπιστίας (επικύρωση) της αποτελεσματικότητας της εκχύλισης, ανάλογα με το στάδιο στο οποίο εισάγονται εσωτερικά πρότυπα και ανάλογα με το αν τα αποτελέσματα αναφέρονται με βάση το προϊόν ή το λίπος.

4.1.2 Ειδικές απαιτήσεις για βιολογικές δοκιμασίες με βάση κύτταρα

Κατά την εκτέλεση μιας βιολογικής δοκιμασίας, κάθε δοκιμασία απαιτεί μια σειρά προτύπων διαλυμάτων του TCDD ή του μείγματος διοξίνης/φουρανίου (καμπύλη πλήρους δόσης-απόκρισης με R2>0,95). Ωστόσο, για λόγους διαλογής (screening) πρέπει να χρησιμοποιηθεί μια καμπύλη χαμηλών συγκεντρώσεων, για την ανάλυση δειγμάτων χαμηλών επιπέδων συγκέντρωσης.

Μια συγκέντρωση αναφοράς TCDD (περίπου 3 φορές το όριο ποσοτικού προσδιορισμού) σε ένα δελτίο ποιοτικού ελέγχου πρέπει να χρησιμοποιείται για τα αποτελέσματα της βιολογικής δοκιμασίας κατά τη διάρκεια μιας σταθερής περιόδου. Μια εναλλακτική λύση θα ήταν η σχετική απόκριση ενός δείγματος αναφοράς σε σύγκριση με τη καμπύλη βαθμονόμησης TCDD, καθώς η απόκριση των κυττάρων μπορεί να εξαρτάται από πολλούς παράγοντες.

Ιδιαίτερα για τους υπολογισμούς των ποσοτικών προσδιορισμών, το δείγμα που προκύπτει από την αραίωση των δειγμάτων πρέπει να είναι εντός του γραμμικού τμήματος της καμπύλης αναφοράς. Δείγματα πάνω από το γραμμικό τμήμα της καμπύλης αναφοράς πρέπει να αραιώνονται και να προσδιορίζονται εκ νέου. Συνεπώς, συνιστάται να προσδιορίζονται τουλάχιστον τρεις ή περισσότερες αραιώσεις ταυτόχρονα.

4.1.3 Ειδικές απαιτήσεις, για βιολογικές, δοκιμασίες με βάση συσκευασίες προπαρασκευασμένων αντιδραστηρίων (test kits)

Δεν έχουν υποβληθεί ακόμα στοιχεία, εμπορικά βιολογικών δοκιμασιών με βάση συσκευασίες προπαρασκευασμένων αντιδραστηρίων (test-kits), που να διαθέτουν επαρκή ευαισθησία και αξιοπιστία ώστε να χρησιμοποιηθούν για διαλογή, σχετικά με την παρουσία διοξινών στα απαιτούμενα επίπεδα σε δείγματα τροφίμων ή ζωοτροφών. Πρέπει να τηρούνται οι οδηγίες του κατασκευαστή για την προετοιμασία δείγματος και τις αναλύσεις. Οι συσκευασίες προπαρασκευασμένων αντιδραστηρίων δοκιμών (test kits) δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται μετά την ημερομηνία λήξης τους.

Οι συσκευασίες προπαρασκευασμένων αντιδραστηρίων δοκιμών πρέπει να διατηρούνται στα πλαίσια του καθορισμένου φάσματος της θερμοκρασίας αποθήκευσης και να χρησιμοποιούνται στην καθορισμένη θερμοκρασία λειτουργίας. Το όριο ανίχνευσης για τις ανοσολογικές δοκιμασίες καθορίζεται ως 3x φορές την τυπική απόκλιση με βάση δέκα (10) επαναληπτικές αναλύσεις του τυφλού διαιρούμενης με την τιμή της κλίσης της γραμμικής εξίσωσης παλινδρόμησης. Για τις δοκιμές στο εργαστήριο πρέπει να χρησιμοποιούνται πρότυπα διαλύματα αναφοράς ώστε να εξασφαλιστεί ότι η απόκριση του προτύπου κυμαίνεται εντός ενός αποδεκτού εύρους. [98]

4.2 Ανάλυση και σύγκριση των μεθόδων ανίχνευσης διοξινών και PCBs στη τροφική αλυσίδα

Λόγω των πολύ χαμηλών καθορισμένων ορίων που έχουν οριστεί για τις διοξίνες και τα PCBs και την ανάγκη ανίχνευσης 29 διαφορετικών ομοειδών είναι εξαιρετικά δύσκολο να εντοπιστούν και να μετρηθεί η συγκέντρωση τους με αξιόπιστο τρόπο. Η πιο συνηθισμένη μέθοδος που χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ομοειδών διοξινών και DL-PCBs είναι η χρωματογραφία αερίου υψηλής ανάλυσης σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας υψηλής ανάλυσης (HRGC-HRMS).

Ωστόσο, αυτή η μέθοδος απαιτεί εξελιγμένους μεθόδους καθαρισμού για τον διαχωρισμό των ενώσεων από το λίπος και άλλους μολυσματικούς παράγοντες που ενδέχεται να επηρεάσουν την ανάλυση. Η τεχνική HRGC-HRMS είναι προς το παρόν η μόνη αποδεκτή μέθοδος που μπορεί να ποσοτικοποιήσει τη συγκέντρωση διαφορετικών συγγενών διοξινών και DL-PCB σε πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης.

Αυτή η ανάλυση όμως είναι δαπανηρή εξαιτίας της ανάγκης χρήσης πολύπλοκων οργάνων που μπορούν να τα χειριστούν μονο καλά εκπαιδευμένο προσωπικό και ακριβών χημικών και πρότυπων διαλυμάτων. Γενικότερα η ενόργανη χημική ανάλυση προσφέρει εξαιρετική ευαισθησία για τη μέτρηση των επιπέδων διοξίνης στα τρόφιμα λόγω των πολύ χαμηλών ορίων ανίχνευσης.

Κύριο μειονέκτημα της μεθόδου HRGC/HRMS αποτελεί η έλλειψη πληροφοριών σχετικά με πιθανές άλλες ενώσεις που μοιάζουν με διοξίνες, όπως οι βρωμιωμένες ή μικτές αλογονωμένες διοξίνες. Προς το παρόν δεν είναι γνωστό ποια είναι η συμβολή αυτών των ενώσεων στη συνολική ποσότητα των ενώσεων που μοιάζουν με διοξίνη. Η χαμηλή τους ποσοτική απόδοση αποτελεί ένα ακόμα μειονέκτημα.

Όσον αφορά τους βιοαισθητήρες παρουσιάζουν πολλά πλεονεκτήματα όπως ταχεία απευθείας επιτόπια ανάλυση, ελάχιστη παραγωγή αποβλήτων, χαμηλό κόστος ενέργειας, τη δυνατότητα συνδυασμού δοκιμασιών (multiplex technology). Η εφαρμογή τους δεν απαιτεί ειδικό εργαστηριακό χώρο και χρειάζονται λιγότερα χημικά αντιδραστήρια. Οι βιοαισθητήρες λόγω της αξιοπιστίας τους, έχουν τη δυνατότητα υψηλής απόδοσης μπορούν να βοηθήσουν την έγκαιρη λήψη αποφάσεων για την αποφυγή μόλυνσης. Αυτοί οι αισθητήρες δεν χρησιμοποιούνται ευρέως σε συστήματα παρακολούθησης και εξακολουθούν να απαιτούν περαιτέρω βελτιστοποίηση.

Οι βιοαισθητήρες κυττάρων (cell-based biosensors) συνήθως ανακλούν τη τοξικότητα των διοξινών και DL-PCBs. Αυτοί οι βιοαισθητήρες παρουσιάζουν την υψηλότερη συναφή απόδοση από άποψη φυσιολογίας (present highest physiologically relevant output) καθώς αντιδρούν με τις διοξίνες με βιολογικά παρόμοιο τρόπο. Σημαντικό μειονέκτημα αυτής της ομάδας βιοαισθητήρων είναι η αργή απόκρισή του στους μολυσματικούς παράγοντες αυτό θα μπορούσε βέβαια να βελτιωθεί στο μέλλον. Η ευαισθησία των βιοαισθητήρων είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με τη ενόργανη χημική ανάλυση και τους βιολογικούς προσδιορισμούς.

Ορισμένοι μέθοδοι προκατεργασίας χρειάζονται πριν τον προσδιορισμό με χρήση βιοαισθητήρα, έτσι οι μέθοδοι εκχύλισης χρησιμοποιώντας λιγότερο πολύπλοκα όργανα και χημικά μπορούν να βελτιώσουν τη δυνατότητα των βιοαισθητήρων να ανιχνεύουν διοξίνες και DL-PCBs σε τρόφιμα, ζωοτροφές και περιβαντολογικά δείγματα. [94]

Παρόλο που η ELISA είναι ένας απλός προσδιορισμός για την ανίχνευση διοξινών η χαμηλή ευαισθησία και εξειδίκευση σε σχέση με την ενόργανη ανάλυση περιορίζει τις εφαρμογές της. Η προκατεργασία του δείγματος είναι σημαντική για την συμπύκνωση των διοξινών στο μείγμα, την αφαίρεση πιθανόν παρεμποδιστικών ουσιών και τη βελτίωση της ευαισθησίας του προσδιορισμού. Η HRGC-HRMS ανάλυση απαιτεί ακριβές και χρονοβόρες τεχνικές εκχύλισης ενώ η ELISA απλές, γρηγορότερες και οικονομικότερες επίσης νέες μέθοδοι εκχύλισης και καθαρισμού του δείγματος, αναπτύσσονται για αποδοτικότερο προσδιορισμό των διοξινών.

Η ELISA και RIA βασίζονται στην αλληλεπίδραση αντιγόνου και αντισώματος επομένως έχουν υψηλή εξειδίκευση, όμως η RIA απαιτεί αντισώματα επισημασμένα με ^{125}I ή ^{32}P οπότε και απαιτείται άδεια χρήσης ραδιενέργειας και χρησιμοποιείται σπάνια. [95]

Για τους *in vivo* προσδιορισμούς αποτελούν εργαλείο ελέγχου άμυνας για την άγρια ζωή λόγω τις αβεβαιότητας των *in vitro* προσδιορισμών όσον αφορά τη βιοδιαθεσιμότητα και τοξικοκινητική. Κρίνεται απαραίτητο να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματα *in vitro*. Μειονεκτήματα είναι το κόστος, ο χρόνος και απαιτούνται μέθοδοι ευθανασίας και γι' αυτό κρίνεται ηθικά, ταυτόχρονα σε υψηλές δόσεις, παρατηρήθηκε ανταγωνιστική αναστολή. Οι *in vitro* βιολογικοί προσδιορισμοί προσφέρουν γρήγορη, υψηλή ευαισθησία και σχετικά οικονομικότερη λύση στους περιορισμούς των *in vivo* δοκιμασιών. [97]

Οι κλασσικές μέθοδοι προκατεργασίας του δείγματος για HRGC/HRMS ανάλυση περιγράφηκαν παραπάνω και απαιτούν μια εβδομάδα για να ληφθούν τα εκχυλίσματα και να είναι έτοιμα για τη ενόργανη ανάλυση (αυτό δεν σημαίνει ότι ο αναλυτής παραμένει απασχολημένος καθ όλη τη χρονική διάρκεια και μπορεί να δουλεύει ταυτόχρονα διάφορα δείγματα καθώς ο πραγματικός χρόνος προκατεργασίας του δείγματος είναι αρκετά μικρός). Ταυτόχρονα απαιτούν χαμηλότερο κόστος χημικών αντιδραστηρίων, σημαντικά χαμηλότερο κόστος για τον εξοπλισμό, υψηλότερο κόστος όμως, για το προσωπικό κα-

θώς απαιτούνται παραπάνω ώρες εργασίας και αρκετά χρονοβόρα σε σχέση με τις αυτοματοποιημένες μεθόδους.

Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί ορισμένες αυτοματοποιημένες διαδικασίες εκχύλισης και καθαρισμού. Οι αυτοματοποιημένες διαδικασίες είναι αυτοματοποιημένη εκχύλιση ASE (Accelerated Solvent Extraction) ή PLE (Pressurized Liquid Extraction) και καθαρισμός όπως με χρήση Power Prep™ (Fluid Management System, FMS), αυτές οι διαδικασίες εμφανίζουν πλεονεκτήματα όπως ότι είναι γρηγορότερες, η εκχύλιση και ο καθαρισμός μπορεί να διαρκέσουν μια ημέρα ωστόσο τα χημικά αντιδραστήρια είναι ακριβότερα και απαιτούν προσωπικό με υψηλές δεξιότητες και εμπειρία χειρισμού των οργάνων. [70]

Η ανάλυση διοξινών και PCBs γίνεται μόνο από εξειδικευμένα εργαστήρια και προσωπικό καθώς απαιτούνται εξελιγμένες μέθοδοι οι οποίες και είναι διαθέσιμες σε περιορισμένο αριθμό εργαστηρίων σε όλο τον κόσμο. Το κόστος ανάλυσης είναι πολύ υψηλό και ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο του δείγματος κυμαίνεται πάνω από 1000$ για την ανάλυση ενός μεμονωμένου βιολογικού δείγματος έως αρκετές χιλιάδες δολάρια ΗΠΑ για τη συνολική αξιολόγηση της απελευθέρωσης από έναν αποτεφρωτήρα αποβλήτων.

Ολοένα και περισσότερο αναπτύσσονται βιολογικοί μέθοδοι προσδιορισμού οι οποίοι επιτρέπουν περισσότερες αναλύσεις με χαμηλότερο κόστος και σε περίπτωση που τα αποτελέσματα είναι θετικά, η επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων πρέπει να γίνεται με την ενόργανη χημική ανάλυση. [52]

Είναι απίθανο αυτές οι βιοχημικές μέθοδοι να αντικαταστήσουν ποτέ την ενόργανη χημική ανάλυση ή τις *in vivo* τοξικολογικές μελέτες. Η ενόργανη ανάλυση είναι απαραίτητη για τον προσδιορισμό και τον ακριβή ποσοτικό προσδιορισμό της επιλεγμένης κατηγορίας PHAHs, ενώ οι μέθοδοι *in vivo* είναι απαραίτητες για τη μελέτη της βιοδιαθεσιμότητας και τη πρόβλεψη αποκρίσεων ολόκληρών οργανισμών. [97]

Οι συνέχεις και αδιάκοπες έρευνες των επιστημόνων για τη βελτίωση των διαθέσιμων μεθόδων στο μέλλον, φαίνεται να προσανατολίζονται στη μείωση των ορίων ανίχνευσης παρόλο που είναι ήδη αρκετά χαμηλά, πρέπει να ερευνηθεί ο κίνδυνος βιοσυσσώρευσης. Έπειτα πρέπει να ερευνηθούν οι παράπλευρες επιδράσεις των ουσιών αυτών όπως η αναλογία των φύλων. Οι μελλοντικές προσπάθειες βελτιώσεων θα είναι δύσκολες

λόγω των πανταχού παρών ήδη υπαρχόντων επιπέδων αυτών των ενώσεων και των ενδεχόμενων άλλων παρεμποδιστικών ενώσεων σε τόσο χαμηλά επίπεδα ανίχνευσης. Οι μεγαλύτερες προκλήσεις θα είναι η μείωση του κόστους και της ταχύτητας ανίχνευσης. Οι βιοχημικές μέθοδοι μπορεί να θεωρηθούν αποδοτικές αλλά εξακολουθούν να έχουν περιορισμένη επιτυχία μετά από 20 χρόνια ανάπτυξης. [99]

ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα παραπάνω προκύπτει η σημασία του προσδιορισμού της διοξίνης και των PCBs λόγω της υψηλής τοξικότητας τους και των επιπτώσεων των ενώσεων αυτών στους ζωντανούς οργανισμούς, πληθυσμοί που έχουν εκτεθεί σε αυτές τις ενώσεις μέσω ατυχημάτων το επιβεβαιώνουν.

Η αναλυτική μεθοδολογία για τον προσδιορισμό των διοξινών είναι δύσκολη και απαιτητική διαδικασία καθώς απαιτείται ακριβής και επαναλήψιμος προσδιορισμός σε συγκεντρώσεις της τάξης των ppt (ppt=part per trillion, μέρος στο τρισεκατομμύριο). Η πορεία του αναλυτικού προσδιορισμού περιλαμβάνει εκλεκτικό καθαρισμό του εκχυλίσματος του δείγματος με χρωματογραφικές στήλες πηκτής πυριτίας (Silica gel), οξειδίου του αργιλίου (Alumina), πυριτικού μαγνησίου (Florisil) και ενεργού άνθρακα (Activated carbon).

Η τελική μέτρηση που πραγματοποιείται για την επιτυχή διάκριση των επιμέρους ομοειδών και ισομερών χλωροπαραγώγων απαιτείται διακριτική ικανότητα της τάξης των 9000-15000 (φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας, high resolution mass spectrometry, HRMS), έτσι ώστε να ελαττώνεται το όριο ανίχνευσης και να αυξάνεται η εκλεκτικότητα.

Λόγω της δυσκολίας της ανάλυσης και των απαραίτητων μέτρων ασφαλείας, οι προσδιορισμοί διοξινών πραγματοποιούνται αποκλειστικά σε διαπιστευμένα αναλυτικά εργαστήρια, τα οποία διαθέτουν την κατάλληλη τεχνογνωσία και ειδικό εξοπλισμό, όπως και υψηλά εξειδικευμένο και έμπειρο προσωπικό.

Ταυτόχρονα πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχουν και σχετικά φθηνότερες βιοδιαγνωστικές μέθοδοι προσδιορισμού διοξινών και παρόμοιων προς διοξίνες PCB, που βασίζονται στην αλληλεπίδρασή τους με τον υποδοχέα αρυλικών υδρογονανθράκων (AhR). Οι μέθοδοι αυτές βέβαια στερούνται εκλεκτικότητας και ευαισθησίας, γι' αυτό και ένα θετικό αποτέλεσμα θα πρέπει να ελέγχεται με την κλασσική μέθοδο.

Καταλήγοντας, σε ατομικό επίπεδο οι καταναλωτές μπορούν να ακολουθούν μια ισορροπημένη διατροφή πλούσια σε φρούτα, λαχανικά και δημητριακά, που συμβάλει στην αποφυγή της έκθεσης από μια μόνο μολυσμένη πηγή. Ο διαχωρισμός του λίπους από το κρέας που θα φαγωθεί και η προτίμηση γαλακτοκομικών χαμηλών λιπαρών μπορούν να

συμβάλουν στον περιορισμό της έκθεσης. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για τις νέες μητέρες που μπορούν τις μεταφέρουν στο νεογνό, πρόκειται για μία μακροπρόθεσμη στρατηγική που έχει στόχο τη μείωση των διοξινών από τον οργανισμό.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

[1] H. Fiedler, "The Development of a Global Treaty on Persistent Organic Pollutants(POPs)," in *Persistent Organic Pollutants*, New York, Springer, 2003, p. 14.

[2] Stockholm Convention, "History of the negotiations of the Stockholm Convention," 2019. [Online]. Available: http://chm.pops.int/TheConvention/Overview/History/Overview/tabid/3549/Default.aspx. [Accessed 15 5 2020].

[3] IPEN (International Pollutants Elimination Network), "Pesticides," 2020. [Online]. Available: https://ipen.org/toxic-priorities/pesticides. [Accessed 13 5 2020].

[4] P. D. Boehm, S. Bookspan , R. S. Brown, J. C. Chow, J. Corley, L. A. Dawson, G. S. Douglas, J. I. Ebert, R. Ehrlich, S. D. Emsbo-Mattingly, W. Full, T. D. Gauthier, A. J. Gravel, M. E. Hawley, G. W. Johnson, J. Lu, J. Maney , R. W. Mayes, K. J. McCarthy, J. R. Millette, S. M. Mudge, G. O'Sullivan, R. P. Philp, J. Pietari, S. Ramos, C. Ramsey, T. Saba , W. J. Shields , S. A. Stout, A. D. Uhler, D. Wait and J. G. Watson, Introduction to environmental forensics, vol. 3, B. L. Murphy and R. D. Morrison, Eds., San Diego: Elsevier, 2015, pp. 363-371.

[5] IARC (International Agency for Research on Cancer), "Polychlorinated Biphenyls and Polybrominated Biphenyls," in *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, vol. 107, IARC, 2013.

[6] R. Canaby, K. Crump, M. Feeley, K. Freijer, M. Kogevinas, R. Malisch, P. Verger, J. Wilson and M. Zeilmaker , "Safety evaluation of certain food additivies and contaminants, polychlorionated dibenzodioxins, polychlorionated dibenzofurans and coplanar polychlorionated biphenyls," [Online]. Available: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v48je20.htm#3.1. [Accessed 15 5 2020].

[7] Government of Canada, "Priority Substances List Assessment Report No 1: Polychlorinated dibenzodioxins and Polychlorinated dibenzofurans," *CEPA(Canadian*

Environmental Protection Act), 1990.

[8] EFSA (European Food Safety Authority), "Results on the monitoring of levels of dioxins and PCBs in food and feed," 2010.

[9] IARC (International Agency for Research on Cancer), "IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to human: Polychlorinated dibenzo-para-dioxins and polychlorinated dibenzofurans," 1997.

[10] D. Mackay, A. Bobra, D. Chan and W. Shiu, Vapor pressure correlations for low-volatility environmental chemicals, 10 ed., Enviromental Science and Technology, 1982, pp. 645-649.

[11] Goverment of Japan, "Dioxins," Tokyo, 2003.

[12] L. Ritter, K. R. Solomon , J. Forget, M. Stemeroff and C. O'Leary, "A review of selected persistent organic pollutants DDT-Aldrin-Dieldrin-Endrin-ChlordaneHeptachlor-Hexachlorobenzene-Mïrex-Toxaphene Polychlorinated biphenyls Dioxins and Furans," Canada, 1995.

[13] J. P. Landers and N. J. Bunce , "Review article: The Ah receptor and the mechanism of dioxin toxicity," no. 276, pp. 273-287, 01 06 1991.

[14] US EPA (Envriromental Protection Agency), "Dose-Response Modeling for 2,3,7,8-TCDD," 1997.

[15] Ελληνική Μικροβιολογική Εταιρία, "Οργανοχλωριωμένοι υδρογονάνθρακες: Επιπτώσεις στη δημόσια υγεία," Αθήνα, 2007.

[16] C. I. Lanting, ". Effects of perinatal PCB and dioxin exposure and early feeding mode on child development," 1999.

[17] W. H. Farland, L. S. Birnbaum, D. H. Cleverly , M. J. DeVito , M. N. Lorber, B. D. Rodan, J. L. Schaum, L. C. Tuxen and D. L. Winters , "Exposure and Human Health Reassessment of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin (TCDD) and Related Compounds: Integrated Summary and Risk Characterization for 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin

(TCDD) and Related Compounds," Washington, 2003.

[18] P. Andersson , J. McGuire, C. Rubio, K. Gradin, M. L. Whitelaw, S. Pettersson, A. Hanberg and L. Poellinger, "A constitutively active dioxin/aryl hydrocarbon receptor induces stomach tumors," 2002.

[19] S. S. White and L. S. Birnbaum, "An Overview of the Effects of Dioxins and Dioxin-like Compounds on Vertebrates, as Documented in Human and Ecological Epidemiology," *Journal of Enviromental Science and Health*, vol. 27, no. 4, pp. 197-211, 11 30 2009.

[20] R. Weber, M. Tysklind and C. Gaus, "Dioxin – Contemporary and Future Challenges of Historical Legacies (Editorial, dedicated to Otto Hutzinger)," Env Sci Pollut Res 15(2), 2008.

[21] I. Halonen, K. Tuppurainen and J. Ruuskanen, "Formation of aromatic chlorinated compounds catalyzed by copper and iron," in *Chemosphere*, vol. 34, Elvesier, 1997, pp. 2649-2662.

[22] World Business Council for Sustainable Development-Cement Sustainability Initiative, Formation and release of POPs in the Cement Industry, vol. 2, Foundation for Scientific and Industrial Research (SINTEF), 2006.

[23] G. Mc Kay, "Dioxin characterization, formation and minimization during municipal solid waste (MSW) incineration: review," *Chemical Engineering Journal*, vol. 86, pp. 343-368.

[24] V. Shahare, Techniques for measurement and removal of dioxins and furans, Delhi: CRC Press, 2017.

[25] R. Addick and E. R. Altwicker, "Formation of polychlorinated dibenzo-pdioxins/dibenzofurans from residual carbon on municipal solid waste incinerator fly ash using Na37Cl," in *Chemosphere*, vol. 44, 2001, pp. 1361-1367.

[26] R. B. Stanmore, "The formation of dioxins in combustion systems," in *Combustion and flame*, 2004, pp. 398-427.

[27] M. Souza Pereira, Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD), dibenzofurans (PCDF) and polychlorinated biphenyls (PCB): main sources, environmental behaviour and risk to man and biota, vol. 27, 2004.

[28] European Commission (EC), "Polychlorinated biphenyls and polychlorinated terphenyls (PCBs/PCTs)," 7 8 2019. [Online]. Available: https://ec.europa.eu/environment/waste/pcbs/index.htm. [Accessed 19 5 2020].

[29] R. E. Alcock, P. A. Behnisch, K. C. Jones and H. Hagenmaier, "Dioxin-like PCBs in the environment - human exposure and the significance of sources," in *Chemosphere*, vol. 37, pp. 1457-1472.

[30] C. Gaus , G. J. Brunskill, R. Weber, O. Papke and J. F. Muller, "Historical PCDD Inputs and Their Source Implications From Dated Sediment Cores in Queensland (Australia)," in *Environmetal Science & Technology*, 2001, pp. 4597-4603.

[31] P. S. Kulkarni, J. G. Crespo and C. A. M. Afonso, "Dioxins sources and current remediation technologies — A review," *Environment International*, vol. 34, pp. 139-153, 2008.

[32] Institute of Medicine, Dioxins and Dioxin-like Compounds in the Food Supply: Strategies to Decrease Exposure, Washington: The National Academies Press, 2003, pp. 53-63.

[33] E. R. Altwicker, "Relative rates of formation of polychlorinated dioxins and furans from precursor and de novo reactions.Chemosphere," in *Chemosphere*, vol. 33, Elsevier, 1996, pp. 1897-1904.

[34] WHO (World Health Organization), "Safe management of wastes from health-care activities," Switzerland, 2014.

[35] Χ. Βατσέρης, "Επικίνδυνα Βιομηχανικά Απόβλητα και Ρύπανση Υπεδάφους Καλές πρακτικές διαχείρισης και εφαρμοσμένες λύσεις," INTERGEO, 2012.

[36] European Commission, "Sewage Sludge," 7 8 2019. [Online]. Available: https://ec.europa.eu/environment/waste/sludge/. [Accessed 1 6 2020].

[37] R. Stehouwer, "What is sewage sludge and what can be done with it?," 15 10 2010.

[38] J. Thornton, M. McCally, P. Orris and J. Weinberg, Hospitals and plastics. Dioxin prevention and medical waste incinerators, Public Health Reports, 1996.

[39] European Commission-IPPC, "Reference Document on the Best Available Techniques for Cement and Lime Manufacturing Industries," 2010.

[40] World Business Council for Sustainable Development-Cement Sustainability Initiative, "Formation and release of POPs in the Cement Industry," 2006.

[41] Stokcholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs), "Source Group 6 Open Burning Processes," [Online]. Available: http://toolkit.pops.int/Publish/Main/II_06_OpenBurning.html.

[42] Stokholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs), "Source Group 3 Power Generation and Heating," [Online]. Available: http://toolkit.pops.int/Publish/Main/II_03_Power.html.

[43] N. R. Eugenio, M. McLaughlin and D. Pennock, Soil Pollution a hidden reality, Rome: FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2018, pp. 1-156.

[44] G. R. B. Webster, D. H. Muldrew, J. J. Graham, L. P. Sarna and D. Muir , "Dissolved organic matter mediated aquatic transport of chlorinated dioxins," in *Chemosphere*, vol. 15, Elsevier, 1986, pp. 1379-1386.

[45] J. A. Annema, A. C. Baart, D. J. Bakker, J. E. M. Beurskens, J. J. M. Berdowski, C. W. M. Bodar, W. Duijvenbooden, A. E. Klein, A. K. D. Liem, A. M. A. Van der Linden, H. Noordijk and P. Van de Poel, "Evaluation of PCB fluxes in the environment," Netherlands, 1995.

[46] *COMMISSION REGULATION (EU) No 1259/2011 of 2 December 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for dioxins, dioxin-like PCBs and non dioxin-like PCBs in foodstuffs.*

[47] M. Van den Berg, L. Birnbaum, A. T. Bosveld, B. Brunstrom, P. Cook, M. Feeley, J. P. Giesy, A. Hanberg, R. Hasegawa, S. W. Kennedy, T. Kubiak, J. C. Larsen, F. X. Rolaf

van Leeuwen, A. K. Djien Liem, C. Nolt, R. E. Peterson, L. Poellinger, S. Safe, D. Schrenk, D. Tillitt, M. Tysklind, M. Younes, F. Waern and T. Zacharewski, "Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and Wildlife," in *Enviromental Health Perspectives*, vol. 106, 1998, pp. 775-791.

[48] EPA (Environmental Protection Agency United States), "Supplementary Guidance for Conducting Health Risk Assessment of Chemical Mixtures," Washington, 2000.

[49] Piskorska-Pliszczynska J., P. Struciński and C. Kan, "Contaminants in eggs: dioxins/PCBs and other toxic substances and their possible health implications," in *Food safety assurance and veterinary public health*, vol. 7, Wageningen Academic Publishers, 2019, pp. 415 - 441.

[50] R. Fernández-González, I. Yebra-Pimentel, E. Martínez-Carballo and J. Simal-Gandara, "A Critical Review about Human Exposure to Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins (PCDDs), Polychlorinated Dibenzofurans (PCDFs) and Polychlorinated Biphenyls (PCBs) through Foods," in *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 55, 2015, pp. pp. 1590-1617.

[51] R. Hoogenboom, W. Traag, A. Fernandes and M. Rose, "European developments following incidents with dioxins and PCBs in the food and feed chain," *Food Control*, pp. 670-683, 04 2015.

[52] WHO (World Health Organization), "Dioxins and their effects on human health," 04 10 2016. [Online]. Available: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dioxins-and-their-effects-on-human-health. [Accessed 03 07 2020].

[53] European Commission (EC), "Opinion of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the Dioxin contamination of feedingstuffs and their contibution to the contamination of food of animal origin," 2000.

[54] European Commission (EC), "Fact Sheet on dioxin in feed and food," Brussels, 2001.

[55] P. Ayotte , G. Carrier and E. Dewailly , "Health Risk Assessment for Inuit newborns exposed to dioxin-like compounds through breast feeding," in *Chemosphere*, vol. 32, 1996, pp. 531-542.

[56] C. Lundqvist, M. Zuurbier, C. Johansson, M. Leijs, S. Ceccatelli, M. Saunders, G. Schoeters, G. Tusscher and J. Koppe, "The effects of PCBs and dioxins on child health," pp. 55-64, 2006.

[57] M. Van Den Berg, K. Kypke, A. Kotz, A. Tritscher, S. Lee, K. Magulova, H. Fiedler and R. Malisch, "WHO/UNEP global surveys of PCDDs, PCDFs, PCBs and DDTs in human milk and benefit-risk evaluation of breastfeeding," *Arch Toxicol,* pp. 83-96, 2017.

[58] M. Lorber and L. Phillips , "Infant Exposure to Dioxin-like Compounds in Breast Milk," *Environmental Health Perspectives,* vol. 110, no. 6, pp. 325-332, 2002.

[59] J. Fink-Gremmels and R. Hoogenboom, Animal feed contamination Effects on livestock and food safety, Woodhead Publishing Limited, 2012.

[60] D. Mukerjee, "Health Impact of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins: A Critical Review," *Journal of the Air & Waste Management Association,* vol. 48, no. 2, pp. 157-165, 1998.

[61] J. A. Grassman, S. A. Masten, N. J. Walker and G. W. Lucier, "Animal Models of Human Response to Dioxins," *Environmental Health Perspectives,* pp. 761-775, 1998.

[62] T. Webster and B. Commoner, Dioxins and Health, A. Schecter, Ed., Springer Science & Business media New York, 1994, p. 7.

[63] IARC (International Agency for Research on Cancer), Agents Classified by the IARC Monographs, Vols. 1-111, IARC, 2015.

[64] S. Otles and H. Yildiz, "Dioxin in food and human health," *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry,* vol. 2, no. 5, pp. 593-608, 2003.

[65] I. Calkosinski, J. Rosińczuk-Tonderys, J. Bazan, M. Dobrzyński, A. Bronowicka-Szydełko and K. Dzierz, "Influence of dioxin intoxication on the human system and possibilities of limiting its negative effects on the environment and living organisms," *Annals of agricultural and environmental medicine,* vol. 21, no. 3, p. 518–524, 09 2014.

[66] G. A. Grassman, S. A. Masten, N. J. Walker and G. W. Lucier, "Animal Models of Human Response to Dioxins," *Environmental Health Perspectives,* vol. 106, no.

Supplement 2, pp. 761-775, 04 1998.

[67] P. Mocarelli, P. M. Gerthoux, E. Ferra, D. G. Patterson Jr, S. M. Kieszak, P. Brambilla, N. Vincoli, S. Signorini, P. Tramacere, V. Carreri, E. J. Sampson, W. E. Turner and L. L. Needham, "Paternal concentrations of dioxin and sex ratio of offspring," *The Lancet,* vol. 355, p. 1858–63, 27 05 2000.

[68] V. Lang , "Polychlorinated biphenyls in the environment," *Journal of Chromatography A,* vol. 595, no. 1-2, pp. 1-43, 20 03 1992.

[69] A. H. Μιχαλολιάκος, *Ανάπτυξη και αξιολόγηση μεθόδων προσδιορισμού PCBs στα τρόφιμα,* Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ), 2012, pp. 84-88.

[70] Community Reference Laboratory for Dioxins and PCBs in Feed and Food, "Analytical capacities of National Reference Laboratories (NRLs) and Official Laboratories (OFLs) in case of dioxin incidents in the feed and food chain and conclusions for management in crisis situations," Freiburg, 2009.

[71] T. F. Webster and B. Commoner, Dioxins and Health, vol. 2, A. Schecter and T. A. Gasiewicz, Eds., Wiley-Interscience, 2003.

[72] J. M. Thrasher , "Sources and pathways of dioxins to humans – Diminished contribution of modern WTE facilities," *Columbia University Earth Engineering Center,* 30 11 2014.

[73] Ministry of Health and Welfare, Environment Agency , "Report on Tolerable Daily Intake (TDI) of Dioxins and Related Compounds," Japan, 1999.

[74] European Commision (EC), "Opinion of the Scientific Committee on Food on the Risk Assessment of Dioxins and dioxin-like PCBs in food," 2000.

[75] European Commission (EC), "Council Regulation amending Commission Regulation (EC) No 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs COM (2001) 495 final," Brussels, 2001.

[76] ΕΦΕΤ (Ενιαίος Φορέας Ελέγχου Τροφίμων), "Υπ' αριθμ. πρωτ.: 4019/16-03-2015 Εγκύκλιος ΕΦΕΤ: Ιχνηλασιμότητα σε Επιχειρήσεις Τροφιμών," 2015.

[77] JOINT FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on contaminants in foods, "Proposed draft revision of the code of practice for the prevention and reduction of dioxins and dioxin-like PCBs in food and feed," Netherlands, 2018.

[78] Α. Σίσκος and Α. Τσεχπενάκης, "Αναλυτική μεθοδολογία διοξινών," *Χημικά Χρονικά,* no. 10, Οκτώμβριος 1999.

[79] A. K. Djien Liem, "Basic aspects of methods for thedetermination of dioxins and PCBs in foodstuffs and human tissues," *trends in the analytical chemistry,* vol. 18, no. 6, pp. 429-438, 1999.

[80] US EPA (United States Environmental Protection Agency) Method 1613, "Tetra- through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS," 1994.

[81] EPA (Environmental Protection Agency) Soxhlet Extraction Method 3540C, 2009.

[82] Ν. Δ. Κλούρα, Τεχνικές και Πειράματα Γενικής και Ανόργανης Χημείας, Πάτρα, 1998, p. 100.

[83] Berk Zeki , "Advances in Molecular Toxicology," in *Food Process Engineering and Technology,* 2 ed., 2013.

[84] R. Bye, T. Agasoster and R. Asheim, "A novel and fast extraction technique as an alternative to conventional separatory funnels," *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry,* vol. 345, no. 6, pp. 411-414, 1993.

[85] EPA (Environmental Protection Agency) Method 3630C: Silica gel Clean up, 1996.

[86] A. Papadopoulos , I. Vassiliadou, D. Costopoulou , C. Papanicolaou and L. Leondiadis, "Levels of dioxins and dioxin-like PCBs in food samples on the Greek market," *Chemosphere,* vol. 57, no. 5, pp. 413-419, November 2004.

[87] EPA (Environmental Protection Agency) Method 3620C, "Florisil Clean up," 2014.

[88] K. Vorkamp , P. Roose, P. Bersuder, L. Webster, P. Lepom, C. Munschy, R. Bossi , J. Tronczynski and J. Boer, "Determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in biota and

sediments," *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences,* no. 50, p. 13, May 2012.

[89] D. A. Skoog, F. J. Holler και S. R. Crouch, Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης, 6 επιμ., M. I. Καραγιάννης και K. H. Ευσταθίου, Επιμ., Κωσταράκη, 2007, pp. 324-326,626-647.

[90] «Αεριοχρωματογραφία,» [Ηλεκτρονικό]. Available: http://www.chemguide.co.uk/analysis/chromatography/gas.html. [Πρόσβαση 15 8 2020].

[91] D. Gary , "Analytical Chemistry," vol. 6, John Wiley & Sons Inc. Publication, 2004.

[92] E. Bjorklund, C. Holst and E. Anklam, "Fast extraction, clean-up and detection methods for the rapid analysis and screening of seven indicator PCBs in food matrices," *TrAC Trends in Analytical Chemistry,* vol. 21, no. 1, pp. 40-53, January 2002.

[93] M. E. Hahn, "Biomarkers and bioassays for detecting dioxin-like compounds in the marine environment," *The Science of the Total Environment an International Journal for Scientific Research into the Environment and its Relationship with Man,* pp. 49-69, 2002.

[94] J. Chobtang, I. J. M. De Boer, R. L. A. Hoogenboom, W. Haasnoot, A. Kijlstra and B. J. Meerburg, "The Need and Potential of Biosensors to Detect Dioxins and Dioxin-Like Polychlorinated Biphenyls along the Milk, Eggs and Meat Food Chain," *Sensing of Organic Pollution in Soil, Air, Water and Food,* vol. 11, no. 12, pp. 11692-11716, 2011.

[95] W. Tian, H. Qunhui Xie, H. Fu, X. Pei and B. Zhao, "Immunoanalysis Methods for the Detection of Dioxins and Related Chemicals," vol. 12, no. 12, p. 16710–16731, 5 12 2012.

[96] H. Feldman, D. Rodbard and D. Levine, "Mathematical Theory of Cross-Reactive Radioimmunoassay and Ligand-Binding Systems at Equilibrium," *Analytical Biochemistry,* pp. 530-556, 1972.

[97] P. A. Behnisch, K. Hosoe and S. Sakai, "Bioanalytical screening methods for dioxins and dioxin-like compounds — a review of bioassay/biomarker technology," *Environment International,* vol. 27, no. 5, pp. 413-439, 11 2001.

[98] Εφημερίς της κυβερνήσεως της Ελληνικής δημοκρατίας, *για καθορισμό των μεθόδων δειγματοληψίας και των μεθόδων ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των διοξινών και τον προσδιορισμό,* τόμ. Αρ. Φύλλου 378, 2003, pp. 5329-5340.

[99] E. J. Reiner, R. E. Clement, A. B. Okey and C. H. Marvin, "Advances in analytical techniques for polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and dioxin-like PCBs," *Analytical and Bioanalytical Chemistry,* vol. 386, no. 4, pp. 791-806, 10 2006.