



ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ
ΕΠΙΒΑΡΥΝΣΗΣ ΤΟΥ ΜΗΤΡΙΚΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΑΠΟ
ΟΥΣΙΕΣ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ



2021

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ “ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ”

***“ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΒΑΡΥΝΣΗΣ ΤΟΥ
ΜΗΤΡΙΚΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΑΠΟ ΟΥΣΙΕΣ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΗ
ΔΡΑΣΗ”***

ΔΕΡΜΙΤΖΑΚΗ ΕΛΕΝΗ
ΧΗΜΙΚΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΤΖΑΤΖΑΡΑΚΗΣ,
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2021

UNIVERSITY OF THESSALY
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY & BIOTECHNOLOGY
POSTGRADUATE PROGRAM "TOXICOLOGY"

MASTER THESIS

***"INVESTIGATION OF THE COMPOSITION OF HUMAN MILK AND
ASSESSMENT OF THE BURDEN TO ORGANIC COMPOUNDS WITH
POSSIBLE ENDOCRINE ACTION"***

DERMITZAKI ELENI
CHEMIST

SUPERVISOR: MANOLIS TZATZARAKIS,
ASSOCIATE PROFESSOR

HERAKLION 2021

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Εμμανουήλ Τζατζαράκης

Αναπληρωτής Καθηγητής Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Αριστείδης Τσατσάκης

Καθηγητής Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Ελευθερία Χατζηδάκη

Επίκουρη Καθηγήτρια Νεογνολογίας, Νεογνολογική Κλινική & ΜΕΝ Νεογνών, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Κουρέτα Δημήτριο, Διευθυντή του μεταπτυχιακού προγράμματος “Τοξικολογία”, καθώς και το Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την ευκαιρία που μου έδωσαν να φοιτήσω σε αυτό και να εκπονήσω τη μεταπτυχιακή μου εργασία με τίτλο “*Έλεγχος σύστασης και εκτίμηση της επιβάρυνσης του μητρικού γάλακτος από ουσίες με πιθανή ενδοκρινική δράση*”.

Ευχαριστώ θερμά όλους τους καθηγητές της Τριμελούς Επιτροπής μου. Συγκεκριμένα, ευχαριστώ τον Καθηγητή κ. Τσατσάκη Αριστείδη, Διευθυντή του εργαστηρίου Τοξικολογίας & Εγκληματολογικής Χημείας για τη φιλοξενία στο χώρο του εργαστηρίου του και την παροχή της απαραίτητης υλικοτεχνικής υποδομής, με στόχο τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας στα πλαίσια της διπλωματικής μου εργασίας.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου προς τον Αναπληρωτή Καθηγητή Τοξικολογίας κ. Τζατζαράκη Εμμανουήλ, για την πολύ σημαντική καθοδήγησή του, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την αμέριστη συμπαράσταση και την αμείωτη υπομονή του. Η συμβολή του υπήρξε καθοριστική για τη διεκπεραίωση του πειραματικού μέρους και τη συγγραφή της εργασίας.

Φυσικά, οι ευχαριστίες μου απευθύνονται οπωσδήποτε στην Επίκουρη Καθηγήτρια Νεογνολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης και Διευθύντρια της Νεογνολογικής Κλινικής & Μονάδας Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου, κα Χατζηδάκη Ελευθερία, καθώς και την Παιδιάτρο-Νεογνολόγο της Νεογνολογικής Κλινικής και ΜΕΝΝ του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου, κα Αναγνωστάτου Νικολίνα για την άριστη συνεργασία τους στα πλαίσια της συλλογής των δειγμάτων και τη συμπλήρωση των ερωτηματολογίων, καθώς επίσης και την κα Καπετανάκη Αναστασία Παιδιάτρο Νεογνολόγο Επιμ. Α΄ ΜΕΝΝ Νοσοκομείου Έλενας Βενιζέλου.

Τέλος, σπουδαία υπήρξε και η βοήθεια που μου προσέφεραν τα μέλη και οι συνεργάτες του Εργαστηρίου Τοξικολογίας & Εγκληματολογικής Χημείας, τους οποίους θέλω να ευχαριστήσω εγκάρδια.

Στους αγαπημένους μου.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΕΛΕΝΗ ΔΕΡΜΙΤΖΑΚΗ
ΧΗΜΙΚΟΣ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Διεύθυνση:

Τηλέφωνο:

e- mail: _____

Ημερομηνία γέννησης :

1 ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

Παρόν

Μεταπτυχιακή Ειδίκευση στην Τοξικολογία

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
&
Εργαστήριο Τοξικολογίας και
Εγκληματολογικής Χημείας
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ - ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

2018

Πτυχίο Χημείας

Τμήμα Χημείας, Σχολή Θετικών Επιστημών
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων (www.uoi.gr)

- Εργαστήριο Οργανικής Χημείας
- Εργαστήριο Ενόργανης Ανάλυσης
- Εργαστήριο Ποιοτικής Χημικής Ανάλυσης
- Εργαστήριο Ποσοτικής Χημικής Ανάλυσης
- Εργαστήριο Ανάλυσης και Τεχνολογίας Τροφίμων
- Εργαστήριο Βιοχημείας
- Εργαστήριο Φυσικών και Χημικών Διεργασιών

2018-Παρόν

Τακτικό μέλος της Ένωσης Ελλήνων Χημικών (ΕΕΧ) –
Αρ.Μητρώου: 18039

2 ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

2010/2012 & 2018-19 Ιδιωτική υπάλληλος

2015-2018 Εμπειρία στη διαπαιδαγώγηση και την εκπαίδευση ανηλίκων

3 ΓΝΩΣΗ ΞΕΝΩΝ ΓΛΩΣΣΩΝ

Αγγλικά Άριστη γνώση (επίπεδο C2)

- **NOCN-Level 3-Certificate in ESOL International (Proficiency)**
- **EDEXCEL-Level 3 (Lower)**
- **MICHIGAN UNIVERSITY (Lower)**

4 ΓΝΩΣΗ Η/Υ

MS OFFICE

Πιστοποιητικό Vellum

- Επεξεργασία κειμένου
- Υπολογιστικά φύλλα
- Υπηρεσίες διαδικτύου

ΔΙΠΛΩΜΑ ΟΔΗΓΗΣΗΣ ΑΥΤΟΚΙΝΗΤΟΥ

5 ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ

Παρατηρητικότητα – Αναλυτική σκέψη, Οργάνωση, Επικοινωνία, Ομαδικότητα, Φιλομάθεια, Ακεραιότητα, Υπευθυνότητα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στη συγκεκριμένη ερευνητική εργασία σκοπός μας είναι ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός ουσιών που έχουν ενοχοποιηθεί ως πιθανοί ενδοκρινικοί διαταράκτες, καθώς και η μελέτη της περιεκτικότητας του μητρικού γάλατος σε θρεπτικά συστατικά, όπως λιπαρά, υδατάνθρακες, ακατέργαστη πρωτεΐνη (crude protein), πραγματική πρωτεΐνη (true protein), ολικά στερεά (total solids) και ενέργεια. Η μελέτη επικεντρώθηκε στον προσδιορισμό του εξαχλωροβενζολίου (hexachlorobenzene-HCB), των DDTs (op & ppDDE, op & ppDDD, op & ppDDT), των παραβενίων (μεθυλ, αιθυλ, προπυλ, βουτυλ, βενζυλ), της τρικλοζάνης και των δισφαινολών A, S, F (BPA, BPS, BPF).

Μέσω των παραπάνω προσδιορισμών, επιτεύχθηκε η εκτίμηση της έκθεσης του νεογνού σε ουσίες με ενδοκρινική δράση κατά τη γαλουχία. Η δειγματοληψία έγινε κατά την πρώτη εβδομάδα μετά τον τοκετό στη Νεογνολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου, τη χρονική περίοδο από Ιούνιο 2020 έως Δεκέμβριο 2020.

Συλλέχθηκαν 49 δείγματα μητρικού γάλακτος, έπειτα από ενημέρωση και πληροφόρηση των μητέρων σχετικά με τους σκοπούς της διεξαγωγής της έρευνας και την ενυπόγραφη συγκατάθεσή-συναίνεσή τους, αλλά και τη συμπλήρωση ερωτηματολογίου που αφορά δημογραφικά, διατροφικά και σωματομετρικά χαρακτηριστικά τους, το ιατρικό ιστορικό, τη χρήση προϊόντων προσωπικής φροντίδας και υγιεινής, καθώς και περιβαλλοντικές παραμέτρους. Τα δείγματα επεξεργάστηκαν με μεθόδους υγρής-υγρής εκχύλισης και αναλύθηκαν με τεχνικές αέριας και υγρής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας.

Οι μέσες τιμές για τα λιπαρά ήταν 3,3 g/100 ml (2,0 έως 5,1 g/100 ml), για τις ακατέργαστες πρωτεΐνες 2,0 g/100 ml (1,2 έως 2,9 g/100 ml), για τους υδρογονάνθρακες 7,1g /100 ml (6,6 έως 7,8 g/100 ml), για τα ολικά στερεά 12,5 g/100 ml (11,2 έως 14,2 g/100 ml), για την ενέργεια 67,9 g/100 ml (55 έως 83 g/100 ml) και τέλος για τις πραγματικές πρωτεΐνες 1,6 g/100 ml (1,2 έως 2,4 g/100 ml) σε σύνολο 18 δειγμάτων μητρικού γάλακτος.

Η γραμμικότητα ήταν αποδεκτή τόσο για τις δισφαινόλες, τα παραβένια, όσο και την τρικλοζάνη. Τα όρια ανίχνευσης κυμαίνονταν από 0,01 ng/ml για το προπυλ παραβένιο και την τρικλοζάνη έως 0,32 ng/ml για τη δισφαινόλη F, ενώ οι τιμές % ανάκτησης κυμαίνονταν από 81,5 % για τη δισφαινόλη A έως 121,7% για την δισφαινόλη F, εκτός από την δισφαινόλη S, όπου η αντίστοιχη τιμή ορίων ανίχνευσης ήταν 24,2%. Παράλληλα, οι τιμές της ακρίβειας (% accuracy) των μετρήσεων κυμαίνονταν από 80,0% (για το βενζυλ παραβένιο) έως 114,2 % (για την τρικλοζάνη).

Σε κανένα δείγμα γάλακτος δεν ανιχνεύτηκε η δισφαινόλη F. Η δισφαινόλη S ανιχνεύθηκε στο 20% των δειγμάτων με μέση τιμή 2,58 ng/ml, ενώ η δισφαινόλη A στο 76% των δειγμάτων με μέση τιμή 1,21 ng/ml. Οι μέσες ανιχνευόμενες τιμές των μεθυλ, αιθυλ, προπυλ, βενζυλ και βουτυλ ήταν 11,88, 10,18, 2,49, 1.76 και 0.29 ng/ml αντίστοιχα.

Τα όρια ανίχνευσης κυμαίνονταν από 0,0005 ng/ml για το opDDD έως 0,052 ng/ml για το ppDDD & opDDT, ενώ τα όρια ποσοτικοποίησης (LOQ) από 0,002 έως 0,174 ng/ml αντίστοιχα. Οι μέσες τιμές % ανάκτησης ήταν από 58,2 % (ppDDD & opDDT) έως 100,5% για το opDDD, ενώ οι % μέσες τιμές της ακρίβειας κυμαίνονταν από 90,6% (opDDD) έως 129,9% (για το ppDDE). Το 100% των δειγμάτων ήταν θετικά για το ppDDE, και ακολουθεί το HCB, το opDDE, τα ppDDD & opDDT και τέλος το opDDD με ποσοστά θετικότητας 93,6, 42,5, 40,4 και 36,2% αντίστοιχα. Οι υψηλότερες μέσες συγκεντρώσεις κατεγράφησαν για το ppDDE (1,62 ng/ml) και ακολουθούν τα ppDDD & opDDT (0,35 ng/ml), το opDDE (0,16 ng/ml), το opDDD (0,07ng/ml), ενώ τέλος η μέση τιμή για το HCB ήταν 0,81 ng/ml με εύρος από 0,06 έως 4,62 ng/ml.

Οι διάμεσες τιμές της εκτιμώμενης ημερήσιας πρόσληψης (Estimated Daily Intake-EDI) για τα μεθυλ, αιθυλ, προπυλ και βουτυλ παραβένια υπολογίστηκαν στα 0,14, 0,1, 0,11 και 0,04 μg/kg bw/day, ενώ οι αντίστοιχες των δισφαινολών S και A ήταν 0,006 και 0,008 μg/kg bw/day. Όσον αφορά την τρικλοζάνη, η διάμεση EDI τιμή ήταν 0,09 μg/kg bw/day, με μέγιστη 6,97 μg/kg bw/day. Οι υπολογιζόμενες τιμές του δείκτη κινδύνου (Hazard Index-HI) ήταν για όλες τις περιπτώσεις μικρότερες από τη μονάδα.

Αντίστοιχα, η διάμεση τιμή της εκτιμώμενης ημερήσιας πρόσληψης του HCB ήταν 0,07 μg/kg bw/day, με τιμές να κυμαίνονται από το 0,01 έως τα 0,69 μg/kg bw/day, ενώ για το σύνολο των DDTs η αντίστοιχη διάμεση τιμή ήταν 0,19 μg/kg bw/day, με διακύμανση από 0,01 έως 1,31 μg/kg bw/day.

Λέξεις κλειδιά: μητρικό γάλα, ενδοκρινικοί διαταράκτες, θρεπτικά συστατικά, επιβάρυνση, τρικλοζάνη, εξαχλωροβενζόλιο, DDTs, δισφαινόλες, παραβένια, αέρια και υγρή χρωματογραφία, φασματομετρία μάζας, εκτίμηση κινδύνου.

ABSTRACT

The aim of the present study was the qualitative and quantitative analysis of chemicals with potential endocrine action and the determination of the nutrient content of human milk such as fats, carbohydrates, crude and true proteins, total solids and energy. The study was focused on the detection of hexachlorobenzene (HCB), DDTs (op & ppDDE, op & ppDDD, op & ppDDT), parabens (methyl, ethyl, propyl, butyl and benzyl), triclosan, bisphenols A, S and F (BPA, BPS, BPF) in human milk in order to estimate the dietary exposure of infants during breastfeeding.

In total, 49 human milk samples were collected during the first week after birth in the Neonatal Care Unit in the University Hospital of Heraklion, from June 2020 to December 2020. All participants were informed about the study and were asked to sign consent for participation before sample collection. Mothers answered questionnaires about demographic information, dietary and somatometric characteristics, medical history, use of personal care products and information about exposure through other potential environmental sources of the examined compounds. Samples were treated with liquid-liquid extraction and analyzed with gas chromatography and liquid chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS, LC-MS).

The mean concentrations for fats were 3.3 g/100 ml (range: 2.0-5.1 g/100 ml), for crude proteins 2.0 g/100 ml (range: 1.2-2.9 g/100 ml), for carbohydrates 7.1 g/100 ml (range: 6.6-7.8 g/100 ml), for total solids 12.5 g/100 ml (range: 11.2-14.2 g/100 ml), for energy 67.9 g/100 ml (range: 55-83 g/100 ml) and for total proteins 1.6 g/100 ml (range: 1.2-2.4 g/100 ml) in 18 tested human milk.

Method linearity was acceptable for bisphenols, parabens and triclosan. Limits of detection were ranged from 0.01 ng/ml for propyl paraben and triclosan to 0.32 ng/ml for BPF and recoveries were ranged from 81.5% (BPA) to 121.7% (BPF) except for BPS that was 24.2%. The method accuracy was ranged from 80.0% (benzyl paraben) to 114.2% (triclosan).

No sample was detected positive for BPF. BPS was detected in 20% of the samples at median concentration 2.58 ng/ml and BPA in 76% of the samples at median concentration 1.21 ng/ml. Methyl, ethyl, propyl, benzyl and butyl parabens were detected at median concentrations 11.88, 10.18, 2.49, 1.76 and 0.29 ng/ml respectively. For DDTs and HCB, the detection limits were ranged from 0.0005 ng/ml for opDDD to 0.052 ng/ml for ppDDD & opDDT while the quantification limits from 0.002 for opDDE and opDDD to 0.174 ng/ml for ppDDD & opDDT. The average % recovery values were from 58.2% (ppDDD &

opDDT) to 100.5% for opDDD, while the % average accuracy values were ranged from 90.6% (opDDD) to 129.9% (for ppDDE).

All samples were positive for ppDDE followed by HCB, opDDE, ppDDD & opDDT and opDDD at 93.6%, 42.5%, 40.4% and 36.2% respectively. The highest median concentrations were found for ppDDE (1.62 ng/ml) followed by ppDDD & opDDT (0.35 ng/ml), opDDE (0.16 ng/ml) and opDDD (0.07 ng/ml). The median for HCB was 0.81 ng/ml and all detected levels were ranged from 0.06 to 4.62 ng/ml.

The infants' daily dietary exposure was calculated by the Estimated Daily Intake-EDI and the median values for methyl, ethyl, propyl and butyl parabens were 0.14, 0.1, 0.11 and 0.04 µg/kg bw/day respectively. The corresponding median EDIs for BPS and BPA were 0.006 and 0.008 µg/kg bw/day. For triclosan, the median EDI was 0.09 µg/kg bw/day and the maximum value was 6.97 µg/kg bw/day. Hazard Index values were also calculated and they were under the value 1 for all compounds.

The median value of the estimated daily intake for HCB was 0.07 µg/kg bw/day with a range from 0.01 to 0.69 µg/ kg bw/day, while for the total DDTs the corresponding median values were 0.19 µg/ kg bw/day with a range from 0.01 to 1.31 µg/ kg bw/day.

Keywords: human milk, endocrine disruptors, nutrients, infant exposure, triclosan, HCB, DDTs, bisphenols, parabens, gas and liquid chromatography, mass spectrometry, risk assessment.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Ενδοκρινικοί Διαταράκτες

1.2. Παραβένια

1.2.1. Ιδιότητες παραβενίων

1.2.2. Πηγές έκθεσης

1.2.3. Επιπτώσεις στην υγεία

1.2.4. Απελευθέρωση στο περιβάλλον

1.3. Τρικλοζάνη

1.3.1. Δομή και Ιδιότητες

1.3.2. Πηγές έκθεσης

1.3.3. Επιπτώσεις στην υγεία

1.4. Δισφαινόλες

1.4.1. Πηγές και Οδοί έκθεσης

1.4.2. Επιπτώσεις στην υγεία

1.5. DDTs

1.5.1. Ιδιότητες και νομοθεσία

2. ΜΗΤΡΙΚΟ ΓΑΛΑ

2.1 Ιδιότητες

2.2 Σύσταση μητρικού γάλακτος

2.3 Μακροθρεπτικά συστατικά

2.4 Μικροθρεπτικά συστατικά

2.5 Χρήση ουσιών από τη θηλάζουσα μητέρα

2.6 Συντήρηση μητρικού γάλακτος

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1. Σκοπός της μελέτης

3.2. Πληθυσμός

3.3. Ανάλυση μητρικού γάλακτος ως προς τη σύστασή του

3.4. Προσδιορισμός των δισφαινολών, παραβενίων και τρικλοζάνης σε δείγματα μητρικού γάλακτος

3.4.1. Αντιδραστήρια

3.4.2. Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων

3.4.3. Παρασκευή επιμολυσμένων διαλυμάτων

3.4.4. Οργανολογία

3.4.5. Μεθοδολογία επεξεργασίας δειγμάτων μητρικού γάλακτος για την ανίχνευση της τρικλοζάνης, των παραβενίων και των δισφαινολών

3.4.6. Συνθήκες χρωματογραφίας

3.4.7. Αναλυτικές παράμετροι εφαρμοζόμενης μεθοδολογίας

3.4.8. Ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις των δισφαινολών, των παραβενίων και της τρικλοζάνης σε δείγματα μητρικού γάλακτος

3.4.9. Μελέτη εκτίμησης κινδύνου

3.5. Προσδιορισμός των DDTs και HCB σε δείγματα μητρικού γάλακτος

3.5.1. Αντιδραστήρια

3.5.2. Παρασκευή πρότυπων και επιμολυσμένων διαλυμάτων

3.5.3. Μεθοδολογία εκχύλισης

3.5.4. Οργανολογία

3.5.5. Αναλυτικές παράμετροι εφαρμοζόμενης μεθοδολογίας

3.5.6. Ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις των HCB and DDTs στα δείγματα μητρικού γάλακτος

3.6. Συζήτηση

Βιβλιογραφία

Παράστημα

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

TCS: Triclosan

PBs: Parabens

MenP: Methyl paraben

EthPB: Ethyl paraben

ProPB: Propyl paraben

ButPB: Butyl paraben

BenzP: Benzyl paraben

IS: Internal Standard

ES: External Standard

BPs: Bisphenols

BPA: Bisphenol A

BPS: Bisphenol S

BPF: Bisphenol F

DDTs: Dichlorodiphenyltrichloroethane

LC: Liquid Chromatography

GC: Gas Chromatography

MS: Mass Spectrometer

LOD: Limit of Detection

LOQ: Limit Quantification

Rt: Retention time

SD: Standard Deviation

SN: Signal to Noise

ED: Endocrine Disruptor

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Τοξικολογία αποτελεί τον κλάδο της επιστήμης που διερευνά τις επιβλαβείς επιδράσεις των χημικών ουσιών στον άνθρωπο, στα ζώα και στο περιβάλλον με στόχο την εκτίμηση του κινδύνου για τη δημόσια υγεία και την ενημέρωση της νομοθεσίας, ώστε η έκθεση στους ρυπαντές να περιοριστεί σε ασφαλή επίπεδα. Θα ήταν πολύ σημαντικό να αναφέρουμε ότι η απόκριση σε διάφορες ουσίες, δεν είναι όμοια σε όλα τα άτομα διότι διαδραματίζουν ρόλο αρκετοί παράγοντες. Επιπλέον, υφίστανται χρονικές περίοδοι στη ζωή ενός ατόμου, που υπάρχει η πιθανότητα να είναι περισσότερο ευαίσθητο σε ορισμένες χημικές ουσίες. Τέλος, απλά και μόνο επειδή κάποιος εκτίθεται σε μία επιβλαβή ουσία, δε σημαίνει πως πάντα μπορεί να νοσήσει από εκείνη. Ας θυμηθούμε : “...Η δόση ορίζει το δηλητήριο”. Ως συμπέρασμα, όλες οι ουσίες είναι πιθανό να είναι τοξικές όταν λαμβάνονται από έμβιους οργανισμούς σε συγκεκριμένα επίπεδα δόσης και σε συγκεκριμένες συνθήκες (National Institute of Environmental Health Sciences, 2019). Ο ευρύτερος όρος “ξеноβιοτική ουσία”, αναφέρεται σε μία ξένη ουσία για τον οργανισμό, η οποία εισέρχεται σε αυτόν και μπορεί να επιδράσει στη λειτουργία του. Έτσι, θα ήταν δυνατό να χαρακτηριστεί ως ωφέλιμη, όπως είναι οι φαρμακευτικές ουσίες ή ως τοξική, όπως για παράδειγμα τα βαρέα μέταλλα.

1.1. Ενδοκρινικοί Διαταράκτες

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Υπηρεσία για την Ασφάλεια των Τροφίμων (European Food Safety Authority, EFSA), οι ενδοκρινικές δραστικές ουσίες (Endocrine Active Substances) είναι ουσίες που μπορούν να αλληλεπιδράσουν ή να επηρεάσουν τη φυσιολογική ορμονική δράση. Όταν αυτό οδηγεί σε δυσμενή αποτελέσματα, ονομάζονται ενδοκρινικοί διαταράκτες (ΕΔ) (Endocrine Disruptors - ED). Οι ενδοκρινικοί διαταράκτες μπορεί να είναι ουσίες φυσικές (όπως φυτοοιστρογόνα στη σόγια) ή τεχνητές. Το ενδοκρινικό ορμονικό σύστημα είναι σημαντικό για την υγεία των οργανισμών, διότι ρυθμίζει και ελέγχει την απελευθέρωση ορμονών.

Οι ενδοκρινικοί διαταράκτες έχουν χημική δομή που μοιάζει με εκείνη των φυσικών ορμονών του οργανισμού, με αποτέλεσμα να μπορούν να τις “μιμηθούν”, επεμβαίνοντας στο ενδοκρινικό σύστημα και εμποδίζοντας τη φυσιολογική λειτουργία τους. Εισέρχονται

στον οργανισμό μέσω της αναπνευστικής οδού, της κατάποσης και της δερματικής απορρόφησης. Οι χημικές αυτές ενώσεις βρίσκονται στο περιβάλλον, τα τρόφιμα, τα καλλυντικά, σε είδη σπιτιού και σε άλλα καταναλωτικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται καθημερινά σε μεγάλη κλίμακα. Σε αυτά συμπεριλαμβάνονται τα απορρυπαντικά, οι εσωτερικές επικαλύψεις σε μεταλλικές συσκευασίες τροφίμων (κονσέρβες), ορισμένα πλαστικά μπουκάλια ή κύπελλα, αλλά και τα παιχνίδια, τα παρασιτοκτόνα και φαρμακευτικά προϊόντα (Dodge et al., 2015; González et al., 2020; Katsikantami et al., 2016; Machtinger et al., 2018; Sakhi et al., 2014; Tran et al., 2016).

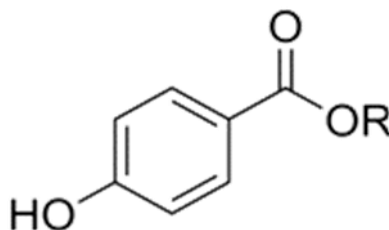
Η ηλικία του εκτιθέμενου οργανισμού, η χρονική διάρκεια της έκθεσης, καθώς και η συνολική έκθεση στους ΕΔ επηρεάζουν σημαντικά την υγεία (Schlumpf et al., 2010). Κάποιες από τις ουσίες αυτές είναι εξαιρετικά λιπόφιλες, με αποτέλεσμα να αποθηκεύονται στο λιπώδη ιστό για μεγάλο χρονικό διάστημα και να ανιχνεύονται στην ανθρώπινη τρίχα και το μητρικό γάλα (Barmpas et al., 2020; Schlumpf et al., 2010; Tsatsakis et al., 2008). Ωστόσο, στην πλειονότητά τους εισέρχονται στο ανθρώπινο σώμα και απεκκρίνονται μέσω των ούρων εντός ολίγων ωρών, είτε ως προϊόντα μεταβολισμού είτε στην αρχική μορφή τους. Τα νεογνά είναι περισσότερο ευάλωτη ομάδα στις δυσμενείς επιδράσεις των ΕΔ, διότι κατά τα πρώτα στάδια της ζωής ο μεταβολισμός των ξενοβιοτικών είναι ανώριμος, δε γίνεται πλήρης αδρανοποίηση και απομάκρυνση των ουσιών και ο ρόλος των ορμονών είναι καθοριστικός για την κυτταρική διαφοροποίηση και οργανογένεση (WHO, 2013). Συνεπώς, η ηλικία και το αναπτυξιακό στάδιο του οργανισμού αποτελούν βασικούς παράγοντες οι οποίοι καθορίζουν ποιό σύστημα θα πληγεί (αναπνευστικό, αναπαραγωγικό, νευρικό κτλ.) και ποιά θα είναι η έκταση των προβλημάτων (WHO, 2013).

Οι ΕΔ έχουν ενοχοποιηθεί για την πρόκληση χρόνιων νοσημάτων, όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, παχυσαρκία, διαβήτης, αλλεργίες, άσθμα και νευρολογικά νοσήματα (Bertoli et al., 2015; Bjørling-Poulsen et al., 2008; Legler et al., 2015; Mustieles and Fernández, 2020). Στον τομέα της αναπαραγωγής, έχουν συσχετιστεί με προβλήματα υπογονιμότητας, πρόωρο τοκετό και καθυστερημένη ανάπτυξη του βρέφους-παιδιού (Lee et al., 2014; Luccio-Camelo and Prins, 2011; Wang et al., 2016). Ως εκ τούτου, κρίνεται αναγκαίο οι έγκυες γυναίκες και νέες μητέρες να ενημερώνονται κατάλληλα με στόχο να περιορίζεται η περιβαλλοντική έκθεση στους ΕΔ λόγω των καθημερινών συνηθειών, όπου αυτό καθίσταται εφικτό.

1.2. Παραβένια

1.2.1. Ιδιότητες παραβενίων

Τα παραβένια ή όπως ονομάζονται κατά IUPAC, *εστέρες του παρα-υδροξυβενζοϊκού οξέος* είναι μία ομάδα χημικών ουσιών με χημικό τύπο $C_7H_6O_3R$, όπου R είναι μία αλκυλική ομάδα ή ένας βενζολικός δακτύλιος. (Cosmetic Ingredient Review Expert Panel, 2008; Καρζή, 2018). Τα ανάλογα των παραβενίων ονομάζονται μεθυλ, αιθυλ, προπυλ, βουτυλ, βενζυλ, ισοπροπυλ, ισοβενζυλ παραβένια (Haman et al., 2015; Nowak et al., 2018; Bledzka et al., 2014). Ορισμένοι οργανισμοί συνθέτουν φυσικά τις χημικές αυτές ενώσεις (Peng et al., 2008; Καρζή, 2018).



Εικόνα 1. Χημική δομή των παραβενίων, όπου R η αντίστοιχη αλκυλική ομάδα.

(<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Parabens.png>)

Τα παραβένια διακρίνονται σε «βραχείας αλυσίδας», όπου ανήκουν τα μεθυλ, αιθυλ παραβένια και «μακράς αλυσίδας» στα οποία ανήκουν τα προπυλ, βουτυλ και βενζυλ παραβένια (Haman et al., 2015). Χρησιμοποιούνται κατά πλειονότητα εξαιτίας της αντιμικροβιακής δράσης τους, η οποία τείνει να αυξάνεται παράλληλα με την αύξηση μήκους της χημικής αλυσίδας (Kolatorova et al., 2018), το οποίο με τη σειρά του επιφέρει μείωση της διαλυτότητάς τους στο νερό (Nunez et al., 2008; Soni et al., 2005). Η δράση των παραβενίων ως συντηρητικά καθορίζεται από την ποσότητα η οποία διαλύεται στο νερό, έτσι για παράδειγμα τα μεθυλ ή προπυλ παραβένια βρίσκουν ευρύτερη εφαρμογή σε εμπορικά προϊόντα (Soni et al., 2005; Lu et al., 2019).

Δύο παράγοντες που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ευρεία χρήση των παραβενίων είναι η σταθερότητα που παρουσιάζουν τα μόρια αυτά, καθώς και το χαμηλό κόστος τους (Soni et al., 2005).

1.2.2. Πηγές έκθεσης

Τα παραβένια χρησιμοποιούνται εκτενώς ως συντηρητικά σε φαρμακευτικά προϊόντα και σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας (Personal Care Products – PCPs) (Yu et al., 2019), όπως καλλυντικά καθώς και στα τρόφιμα (Dabre and Harvey, 2008), όπως είναι τα λαχανικά και οι κονσερβοποιημένες τροφές (Liao et al., 2013; Yu et al., 2019). Σε έρευνα του Liao διαπιστώθηκε η παρουσία παραβενίων σε προϊόντα όπως κρέας, γαλακτοκομικά, φρούτα, μπισκότα, δημητριακά, αναψυκτικά, λάδι μαγειρικής αλλά και σε καρυκεύματα (Liao et al., 2013). Η κατανάλωση θαλασσινών ενδέχεται, επίσης, να επηρεάσει την ανθρώπινη υγεία λόγω της πιθανής μόλυνσης της υδατοκαλλιέργειας από την ανθρώπινη δραστηριότητα (Lu et al., 2019).

Ποικίλες μελέτες έχουν αποδείξει την παρουσία των παραβενίων σε δείγματα μητρικού γάλακτος (Hines et al., 2015; Gomez et al., 2014; Fotouhi et al., 2017). Συνεπώς, το μητρικό γάλα παρέχει πληροφορίες για ενδεχόμενη έκθεση της μητέρας, αλλά και του νεογνού στις ουσίες αυτές (Esteban and Castano, 2009). Σε πολλές περιπτώσεις το γάλα της μητέρας είναι η αποκλειστική τροφή για το νεογνό, οπότε κρίνεται απαραίτητος ο προσδιορισμός της ημερήσιας έκθεσής του σε χημικές ουσίες με στόχο την εκτίμηση του πιθανού κινδύνου (Kim et al., 2020), εφ' όσον τα βρέφη είναι πιο ευάλωτα σε αλλαγές του ενδοκρινικού συστήματος (Rodriguez-Gomez et al., 2015).

1.2.3. Επιπτώσεις στην υγεία

Εξαιτίας της παρουσίας τους στο περιβάλλον, τα παραβένια μπορούν να εισέλθουν στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω του στόματος, της δερματικής επαφής και της εισπνοής (Yu et al., 2019; Hayden et al., 2005; Hussein et al., 2007; Vandenberg et al., 2007). Εν τούτοις, η κύρια οδός έκθεσης των παραβενίων είναι η διαδερμική απορρόφηση. Αφού απορροφηθούν από το δέρμα, μεταβολίζονται από εστεράσες και απεκκρίνονται τελικά στα ούρα και στη χολή (Boberg et al., 2010).

Η λήψη από του στόματος του προπυλ και βουτυλ παραβενίου, σύμφωνα με έρευνες, μπορεί να προκαλέσει δυσμενείς επιδράσεις στα επίπεδα τεστοστερόνης και την παραγωγή σπέρματος σε νεαρούς αρσενικούς αρουραίους (Oishi, 2001; Oishi, 2002; Xue and Kannan, 2016). Επιπλέον, διαπιστώθηκε η πιθανή επιρροή στην ποιότητα του σπέρματος (Adoamnei et al., 2018) και τη γονιμότητα (Honda et al., 2018). Πράγματι, τα ίδια και οι μεταβολίτες τους, πιθανόν επιτελούν οιστρογονική και αντιανδρογόνα δραστηριότητα, κάτι το οποίο

επιφέρει ανδρική στειρότητα (Boberg et al., 2010; Darbre and Harvey, 2008; Darbre et al., 2004; Liao et al., 2013a; Tavares et al., 2009).

Συν τοις άλλοις, μελέτες αποδεικνύουν πως η έκθεση σε παραβένια μεταβάλλει ή διακόπτει τη φυσιολογική λειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος, προκαλώντας έτσι βλαβερές συνέπειες στην ανθρώπινη υγεία (Tavares et al., 2009). Ακόμα, εξετάζεται η συσχέτιση των παραβενίων με την εμφάνιση καρκίνου του μαστού, κάτι το οποίο προκαλεί ανησυχία γύρω από το θέμα της χρόνιας τοξικότητάς τους (Lu et al., 2019).

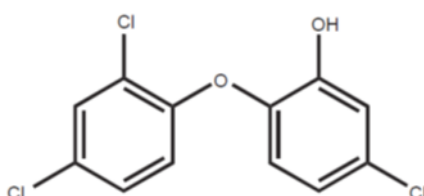
1.2.4. Απελευθέρωση στο περιβάλλον

Εξ' αιτίας της ευρείας χρήσης των παραβενίων ως συντηρητικά σε προϊόντα προσωπικής περιποίησης, αποβάλλονται μέσω οικιακών λυμάτων στο υδάτινο περιβάλλον. Αν και τα παραβένια είναι βιοδιασπώμενα, η ευρεία χρήση τους προκαλεί διασπορά τους στο οικοσύστημα με τις αντίστοιχες ανησυχίες που αυτό συνεπάγεται (Bledzka et al., 2014; Hama et al., 2015; Honda et al., 2018; Xue and Kannan, 2016).

1.3. Τρικλοζάνη

1.3.1. Δομή και Ιδιότητες

Η τρικλοζάνη ονομάζεται 2,4,4'-τριχλωρο-2'-υδροξυ διφαινυλαιθέρας ή 5-χλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξυ)φαινόλη κατά IUPAC (Rodricks et al., 2010; Dann and Hontela, 2011; Dodson et al., 2012) και είναι μία χλωριωμένη αρωματική ένωση (Shrestha et al., 2020). Αποτελείται από δύο φαινολικούς δακτυλίους οι οποίοι συνδέονται μεταξύ τους με ένα άτομο οξυγόνου (Καρζή, 2018).



Εικόνα 2. Χημική δομή της τρικλοζάνης
(Bester, 2003)

Το μόριο της τρικλοζάνης είναι μη πολικό και έχει αρκετά κοινή δράση με τις αλκοόλες. Κατά συνέπεια, η ένωση δεσμεύεται σε υδροφοβικό περιβάλλον παρεμβαίνοντας στη σταθερότητα των λιπιδικών δομών, όπως είναι η διπλή στιβάδα λιπιδίων, με αποτέλεσμα να προκαλεί αποπόλωση της μεμβράνης οδηγώντας σε κυτταρικό θάνατο (Shrestha et al., 2020). Επιπλέον, η τρικλοζάνη λόγω της υδροφοβικότητάς της διαταράσσει τη σταθερότητα των πρωτεϊνικών δομών, αναστέλλοντας τη βιολογική λειτουργία τους (Yue et al., 2019).

Αξίζει να αναφερθεί πως ορισμένα ένζυμα, όπως το Laccase (Shrestha et al., 2016), μπορεί να αποτοξινώσουν την τρικλοζάνη, μετατρέποντάς την σε λιγότερο τοξικά ή μη τοξικά προϊόντα. Έτσι, στο χρονικό διάστημα των 24 ωρών, θα έχει απομακρυνθεί το 56,5% του ενδοκρινικού διαταράκτη (Murugesan et al., 2010).

Αρκετές έρευνες έχουν επιβεβαιώσει τον αντιμικροβιακό χαρακτήρα της τρικλοζάνης (Belfield et al., 2019; Majeed et al., 2019). Εξαιτίας αυτού, θα μπορούσε να βοηθήσει στον έλεγχο των μολύνσεων, καθώς έχει φανεί πως οι μητέρες που χρησιμοποίησαν προϊόντα με περιεχόμενη τρικλοζάνη χρειάστηκαν μικρότερο αριθμό ιατρικών συνταγογραφήσεων για τα βρέφη τους (Ley et al., 2018). Παρά ταύτα, η έκθεση για μεγάλο χρονικό διάστημα σε έστω και χαμηλά επίπεδα τρικλοζάνης δημιουργεί ανοσία του βακτηρίου *E.Coli* στην ένωση αυτή (Li M et al., 2019), ενώ μπορεί να επιφέρει και μεταλλάξεις στο γονιδίωμα του βακτηρίου (Lu et al., 2018).

Μελέτες έχουν δείξει ότι η τρικλοζάνη παρουσίασε συνεργική ικανότητα με τα αντιβιοτικά ampicillin, erythromycin, kanamycin, έναντι του *Staphylococcus epidermidis* (Shrestha et al., 2020a). Απεναντίας, έχει αποδειχθεί πως το μόριο της τρικλοζάνης δρα ανταγωνιστικά στα αντιβιοτικά tetracycline και norfloxacin, καθιστώντας τα βακτήρια *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* ανθεκτικά σε αυτά (Shrestha et al., 2020a). Ο *Staphylococcus aureus* γίνεται πιο ανθεκτικός σε θανατηφόρα δόση κάποιων αντιβιοτικών παρουσία της τρικλοζάνης. Ταυτόχρονα, ένας ακόμα μηχανισμός αντίστασης σε αντιβιοτικά σχετίζεται με μεταλλάξεις εξαιτίας του οξειδωτικού στρες που προκαλούνται από την ουσία (Shrestha et al., 2020).

Κατά συνέπεια, η δράση της με άλλα αντιβιοτικά μπορεί να είναι τόσο συνεργική, όσο και ανταγωνιστική, οπότε είναι εφικτό να επηρεάσει θετικά ή αρνητικά τον άνθρωπο, καθώς η αλληλεπίδραση προσδιορίζεται από το είδος του οργανισμού, των αντιβιοτικών και των εξωτερικών παραγόντων (Shrestha et al., 2020). Η τρικλοζάνη, όπως αναφέρεται, είναι

δυνατόν να χρησιμοποιηθεί στην αντιμετώπιση/θεραπεία του καρκίνου (Shrestha et al., 2020).

1.3.2. Πηγές έκθεσης

Η ουσία εισέρχεται στο ανθρώπινο σώμα μέσω της κατάποσης, της εισπνοής και της δερματικής απορρόφησης (Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction, 2000). Στην από του στόματος λήψη, η τρικλοζάνη απορροφάται ραγδαία από το γαστρεντερικό σωλήνα και μεταβολίζεται άμεσα (Sandborgh et al., 2006). Επομένως, όταν η τρικλοζάνη εισέλθει στο σώμα μέσω της κατάποσης, απεκκρίνεται μέσω των ούρων εντός 3 ωρών από τη στιγμή λήψης (Sandborgh et al., 2006; Yao et al., 2018; Li et al., 2019).

Μέσω της επιδερμικής οδού έκθεσης, η απορρόφηση επιτυγχάνεται λόγω της ταύτισης των λιποφιλικών ιδιοτήτων της ουσίας με εκείνες του δέρματος, περνώντας τελικά στο αίμα έπειτα από το χρονικό διάστημα 1 ώρας από την εφαρμογή. Έναν άλλο μέσο εισόδου της τρικλοζάνης στον οργανισμό αποτελούν οι θύλακες της τρίχας (Moss et al., 2000; Καρζή, 2018).

Γενικότερα, η αποβολή των περισσότερων χημικών ουσιών από το σώμα συμβαίνει εντός ολίγων ωρών από την είσοδό τους, όμως ορισμένες από αυτές συσσωρεύονται στον οργανισμό και ανιχνεύονται στον ορό αίματος, το σάλιο ή το μητρικό γάλα (Hines et al., 2009; Lin et al., 2011; Larsson et al., 2014; Lee et al., 2018). Επομένως, οι έγκυες, οι θηλάζουσες και κυρίως τα βρέφη βρίσκονται σε περισσότερο ευάλωτη θέση απέναντι σε έναν τέτοιο κίνδυνο (Kim et al., 2020).

Η τρικλοζάνη λόγω του αντιμικροβιακού της χαρακτήρα χρησιμοποιείται σε καλλυντικά, οδοντόκρεμες, υφάσματα και σε αρκετά προϊόντα οικιακής χρήσης (Chen et al., 2018; Lu et al., 2018; Ramaswamy et al., 2011; Zhao et al., 2010). Συν τοις άλλοις, η τρικλοζάνη συναντάται σε προϊόντα για την ακμή, καθαριστικά προσώπου, σε σαμπουάν, σε σαπούνια στερεής και υγρής μορφής, σε αντιδρωτικά, σε λοσιόν, κρέμες ξυρίσματος, καθώς και σε στοματικά διαλύματα (Giulivo et al., 2016; Shrestha et al., 2020; Rodricks et al., 2010; Dann and Hontela, 2011; Dodson et al., 2012).

Εξαιτίας του ότι η τρικλοζάνη είναι υδροφοβική χημική ένωση, βρίσκει εμπορική και εργοστασιακή εφαρμογή στην παραγωγή πλαστικών. Εδώ περιλαμβάνονται σωλήνες νερού, κόλλες, ενώσεις στεγανοποίησης, χρώματα, υφάσματα, είδη κουζίνας, έπιπλα, παιχνίδια και πορώδη πλαστικά φίλτρα, με σκοπό να παρεμποδιστεί η μικροβιακή ανάπτυξη (Shrestha et al., 2020).

Πιθανή μόλυνση των τοπικών καλλιεργειών και των υδάτων διαπιστώθηκε σε μία από τις πιο αναπτυγμένες περιοχές της Κίνας, κάτι που πιθανόν να επηρεάζει την ανθρώπινη υγεία μέσω της κατανάλωσης θαλασσινών (Lu et al., 2019). Συνεπώς, υπάρχουν ιδιαίτερες ανησυχίες για την διασπορά και την παραμονή της τρικλοζάνης στο περιβάλλον και γενικότερα στο οικοσύστημα (Aker et al., 2019; Guo et al., 2020; Xie et al., 2020; Fan et al., 2019; Rossmassler et al., 2019).

Ο Οργανισμός Ελέγχου Φαρμάκων και Τροφίμων (Food and Drug Administration – FDA) υπάγει σε κανονισμούς κατηγορίες προϊόντων που αφορούν την κοσμητολογία και την ατομική περιποίηση, όπως σαπούνια, αφρόλουτρα και οδοντόκρεμες, ενώ αντιθέτως προϊόντα όπως ενδύματα, είδη νοικοκυριού, έπιπλα ή παιχνίδια δεν βρίσκονται υπό τον έλεγχό του. Η τρικλοζάνη απαγορεύτηκε τον Σεπτέμβριο του 2016 από τον FDA (Kux, 2016), ενώ τον Ιανουάριο του 2017 αποκλείστηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση (European Union) η χρήση του ως βιοκτόνο σε προϊόντα ατομικής υγιεινής (Juncker, 2016).

1.3.3 Επιπτώσεις στην υγεία

Τα μόρια της τρικλοζάνης έχουν την ικανότητα να προσδένονται στους ενδοκρινικούς υποδοχείς, επομένως είναι εν δυνάμει ενδοκρινικοί διαταράκτες προκαλώντας νευροενδοκρινικές, αναπτυξιακές και αναπαραγωγικές διαταραχές (Jin et al., 2020). Η προγεννητική έκθεση σε τρικλοζάνη σχετίζεται με αύξηση των επιπέδων της τεστοστερόνης στον ομφάλιο λώρο (Shrestha et al., 2020). Διαπιστώθηκε η πιθανότητα μείωσης της παραγωγής ανδρογόνων και οιστρογόνων σε ποντίκια, καθώς και ο ρόλος της ουσίας στην εμφύτευση εμβρίου και τη λειτουργία του πλακούντα, σύμφωνα με μία σειρά ερευνών (Feng et al., 2016; Kumar et al., 2009; Lankester et al., 2013).

Σε έγκυες οι οποίες έρχονται σε επαφή με τρικλοζάνη, έχει βρεθεί ότι επηρεάζεται το βάρος του νεογνού (Machtinger et al., 2018), καθώς και η αρτηριακή πίεση των ιδίων κατά τη διάρκεια της κύησης (Liu et al., 2019b). Ωστόσο, ο χρόνος έκθεσης στον ενδοκρινικό διαταράκτη κατά τη διάρκεια της κύησης διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του παιδιού (Wu et al., 2018a). Ο Wang υποστηρίζει πως τα άρρεν νεογέννητα εμφανίζουν ευαλωτότητα στην προγεννητική έκθεση σε τρικλοζάνη (Wang Chen et al., 2018).

Μελέτες έχουν συνδυάσει το αυξημένο βάρος σε θήλυ νεογνά κατά την στιγμή της γέννησης σε σχέση με το αντίστοιχο των άρρεν νεογνών σε επιβαρυσμένους πληθυσμούς (Ouyang et al., 2018). Σε γενικές γραμμές, οι γυναίκες που εκτίθενται στη τρικλοζάνη

τείνουν να εμφανίζουν οστεοπόρωση, ειδικά εκείνες που βρίσκονται σε μετακλιμακτηριακό στάδιο (Cai et al., 2019).

Η έκθεση σε τρικλοζάνη δίνει έναυσμα στο εντερικό μικροβίωμα να προκαλέσει φλεγμονή και κολίτιδα σχετιζόμενη με ογκογένεση (Sanidad et al., 2018; Sanidad et al., 2019; Yang et al., 2018). Ως εκ τούτου, η καλή υγεία του μικροβιώματος στο έντερο αποτελεί πυλώνα για τη συνολική υγεία του ατόμου (Wong, 2017; Kim et al., 2015).

1.4 Δισφαινόλες

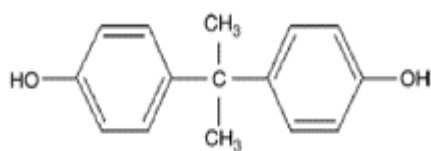
1.4.1 Πηγές και Οδοί έκθεσης

Η δισφαινόλη A και τα δομικά της ανάλογα, όπως κατά κύριο λόγο η δισφαινόλη F, έχουν αυξανόμενη κι εκτεταμένη χρήση εξαιτίας της αντοχής τους, όχι μόνο ως εποξικές ρητίνες σε εσωτερική επικάλυψη συσκευασίας τροφίμων, αλλά και σε υλικά εσωτερικής κάλυψης δοχείων (Fiege et al., 2000; Malaise et al., 2021) και σε διάφορα πλαστικά είδη (Bonefeld-Jorgensen et al., 2007; Richter et al., 2007; Rochester 2013).

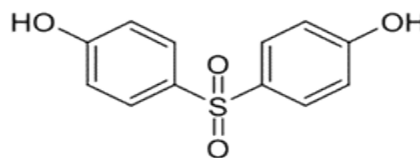
Καθώς οι κατασκευαστές ξεκίνησαν να αφαιρούν τη δισφαινόλη A από τα προϊόντα τους, ώστε να μειώσουν την ανησυχία των καταναλωτών, επιτεύχθηκε βαθμιαία αλλαγή προς τη χρήση των ανάλογών της. Εναλλακτικές λύσεις για τη δισφαινόλη A είναι κυρίως η δισφαινόλη S (BPS) και η δισφαινόλη F (BPF), οι οποίες έχουν υποστεί ήδη μερικούς περιορισμούς (Bjornsdotter et al., 2017; Goldinger et al., 2015; Sogorb et al., 2019).

Τα δομικά ανάλογα, δηλαδή οι δισφαινόλες S και F, έχουν ανιχνευθεί σε προϊόντα καθημερινής φροντίδας (αφρόλουτρα, προϊόντα περιποίησης μαλλιών, καλλυντικά, κρέμες, οδοντόκρεμες) (Liao and Kannan, 2014), είδη χαρτιού (φυλλάδια, εισιτήρια, φάκελοι αλληλογραφίας) (Liao et al., 2012c) και σε τρόφιμα (διαιτητικά, κρέας, λαχανικά, κονσερβοποιημένα τρόφιμα) (Liao and Kannan, 2013). Επιπλέον, τα δύο ανάλογα έχουν βρεθεί σε επιφανειακά νερά, ιζήματα και λύματα σε μικρότερες συγκεντρώσεις από τη δισφαινόλη A. Όλες, όμως, αυτές οι ενώσεις (δισφαινόλη S, δισφαινόλη F, δισφαινόλη A) έχουν γίνει ανιχνεύσιμες σε εσωτερική σκόνη (Liao et al., 2012b). Ιδίως η δισφαινόλη S, εξαιτίας της υψηλής θερμικής σταθερότητάς της (Lotti et al., 2011), χρησιμοποιείται ως αντικαταστάτης της δισφαινόλης A σε προϊόντα χαρτιού, όπως αποδείξεις (Bjornsdotter et

al., 2017; Liao et al., 2012; Bonefeld-Jorgensen et al., 2007; Richter et al., 2007; Rochester 2013), ακόμα κι εκείνα που αναγράφουν “BPA free” (Liao et al., 2012c).



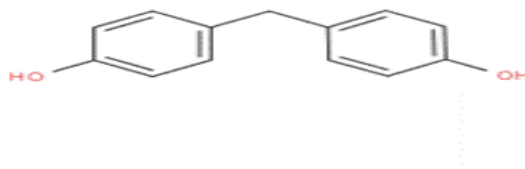
Δισφαινόλη Α



Δισφαινόλη S

(Kang JH et al., 2006)

(https://en.wikipedia.org/wiki/Bisphenol_S)



Δισφαινόλη F

(<https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:34575>)

Εικόνα 3. Χημικές δομές των δισφαινολών Α, S και F

Σύμφωνα με την EFSA, οι κύριες οδοί έκθεσης σε δισφαινόλη Α είναι η διαδερμική και η από στόματος πρόσληψη (Cwiek-Ludwicka, 2015). Πράγματι, η έκθεση σε δισφαινόλη Α μέσω μεταχείρισης θερμικού χαρτιού είναι η δεύτερη μεγαλύτερη πηγή έκθεσης μετά την από του στόματος οδό (EFSA, 2015; Goetz et al., 2017).

Η χρήση της δισφαινόλης S πιθανώς συνεισφέρει στη διαδερμική, αλλά και στην από χέρια σε στοματική τελικά έκθεση (Wu et al., 2018). Κατά συνέπεια, ο επιπολασμός και το επίπεδο της ανθρώπινης έκθεσης είναι δυνατόν να αυξηθούν λόγω της συσσώρευσης της δισφαινόλης S στο περιβάλλον, ως αποτέλεσμα της χαμηλής βιοδιάσπασης στα θαλάσσια νερά συγκριτικά με την δισφαινόλη Α (Danzl et al., 2009). Κάποιες μελέτες υποστηρίζουν πως οι δισφαινόλες S και F παρουσιάζουν παρόμοιες ενδοκρινικές διαταραχές με την δισφαινόλη Α (Rochester and Bolden, 2015). Πάντως, μόνο η Ελβετία έχει απαγορεύσει τη χρήση δισφαινόλης S σε θερμικό χαρτί από το 2019 και οι εταιρίες όφειλαν να συμμορφωθούν στους νέους κανονισμούς έως τον Ιούνιο του 2020 (Malaise et al., 2021).

1.4.2 Επιπτώσεις στην υγεία

Τα περιβαλλοντικά επίπεδα της δισφαινόλης Α έχουν συσχετιστεί με αρνητικές επιδράσεις στην υγεία παιδιών και ενηλίκων σε περισσότερες από 75 μελέτες (Rochester, 2013). Αποδεικνύεται μέσω ερευνών, ότι η έκθεση σε δισφαινόλη Α φαίνεται να έχει κάποια σύνδεση με ασθένειες που αφορούν το ανοσοποιητικό σύστημα όπως αλλεργίες, τροφικές δυσανεξίες, φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου (Xu et al., 2016; Xu et al., 2019) και αυτοάνοσα νοσήματα (Bansal et al., 2017). Κάτι τέτοιο θα μπορούσε να συμβεί κατά κύριο λόγο στη διάρκεια των αναπτυξιακών σταδίων, όταν είναι πιο εύκολο να υπάρξουν επιπτώσεις των προαναφερθέντων μη μεταδοτικών ασθενειών (Bansal et al., 2017). Μέχρι σήμερα, όμως, ο ρόλος των διαφόρων δισφαινολών παραμένει ασαφής γύρω από το ζήτημα της εμφάνισης φλεγμονών (Malaise et al., 2017; van Esterik et al., 2014).

Η δισφαινόλη S μπορεί να προσδεθεί σε μεμβρανικούς και πυρηνικούς υποδοχείς (Estrogen Receptors, ERs) και να παρουσιάσει αδύναμη ανδρογονική δραστηριότητα ήδη από χαμηλές συγκεντρώσεις (Molina-Molina et al., 2013; Vinas and Watson, 2013).

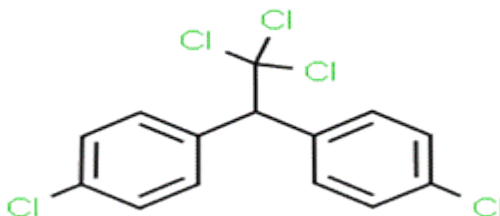
Αντίστοιχα, η δισφαινόλη F χαρακτηρίζεται από οιστρογονομιμικές ιδιότητες παρόμοιες με εκείνες της δισφαινόλης A, σύμφωνα με *in vitro* μελέτες (Fic et al., 2013). Συνεπώς, η αυξανόμενη χρήση της δισφαινόλης F, καθώς και οι ενδοκρινικές της ιδιότητες, την καθιστούν έναν επιπλέον κίνδυνο για το περιβάλλον (Liao et al., 2012; Ruan et al., 2015). Ως σήμερα, καμία μελέτη *in vivo* δεν έχει διερευνήσει την ανοσοτοξικότητα των δισφαινολών S και F, έπειτα από περιγεννητική έκθεση μέσω της διαδερμικής οδού (Malaise et al., 2021).

1.5 DDTs

1.5.1 Ιδιότητες και νομοθεσία

Τα DDTs (Dichloro diphenyl trichloroethanes) ως ημιπτητικοί οργανικοί μολυντές έχουν οριστεί κύριοι μολυντές παγκόσμιας ανησυχίας για δεκαετίες (Aigner et al., 1998; Lin et al., 2012), διότι διαθέτουν υψηλή τοξικότητα και χαμηλή ικανότητα αποικοδόμησης, καθώς υφίστανται βιοσυσσώρευση (Woodwell et al., 1971; Burns and Villeneuve et al., 1987). Επίσης, λόγω του οικολογικού κινδύνου που ελλοχεύει προς τα φυτά, τα ζώα, τον άνθρωπο (Aigner et al., 1998; Lin et al., 2012).

Ουσιαστικά, ως ενδοκρινικοί διαταράκτες μπορούν να δράσουν ως ανταγωνιστές των υποδοχέων ανδρογόνων μαζί με άλλους περιβαλλοντικούς μολυντές (Araki et al., 2018).



Εικόνα 4. Χημική δομή του DDT

(<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2928.html>)

Οι κύριοι μεταβολίτες του DDT είναι τα διχλωρο-δифαινυλο-διχλωρο-αιθυλένιο (ορ και ppDDE) και το διχλωρο-δифαινυλο-διχλωρο-αιθάνιο (ορ και ppDDD). Έχουν παρόμοια χαρακτηριστικά με το DDT, είναι λιπόφιλοι, με μεγάλη ικανότητα βιοσυσσώρευσης και μεγάλο χρόνο παραμονής στο περιβάλλον (Omar et al., 2018; Barmpas et al., 2020).

Το DDT ως οργανοχλωριωμένη χημική ένωση χρησιμοποιούταν ευρέως στη γεωργία, τη βιομηχανία και τον έλεγχο επιδημιών (Fang et al., 2018). Παρ'όλα αυτά, αν και έχει απαγορευθεί εδώ και δεκαετίες, εξακολουθεί να εντοπίζεται στο περιβάλλον (Peng et al., 2020; Duarte-Restrepo et al., 2021; Turusov et al., 2002), ιδίως στα ιζήματα, ακόμα και σε χαμηλά επίπεδα, ενώ αποτελεί απειλή για τους υδρόβιους οργανισμούς και ως εκ τούτου για την ανθρώπινη υγεία μέσω της τροφικής αλυσίδας (Duarte-Restrepo et al., 2021; Turusov et al., 2002). Έχει αποδειχθεί πως βιοσυσσωρεύεται στο ανθρώπινο σώμα μέσω της λήψης τροφής (Lee et al., 2007; McGraw et al., 2009).

Λόγω της μεγάλης απειλής για το οικοσύστημα και την ανθρώπινη υγεία, η βιομηχανική παραγωγή των DDTs απαγορεύτηκε σε διάφορες χώρες παγκοσμίως το διάστημα από 1970 έως 1990 (Zhang et al., 1999; Li et al., 2015; Guo et al., 2013; Hitch and Day, 1992) και τα υπολείμματα απορρίφθηκαν (Zhang et al., 1999; Li et al., 2015). Μολαταύτα, διαπιστώθηκε η απέκκριση νέων ποσοτήτων στη φύση ως αποτέλεσμα της παραγωγής του dicofol, χημική ένωση που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των ακάρεων, και το οποίο είναι ένα οργανοχλωριωμένο παρασιτοκτόνο που σχετίζεται χημικά με το DDT (Zhou et al., 2006; Li et al., 2015; Lin et al., 2009; Yu et al., 2011). Κατά τη διαδικασία

χρήσης αλλά και παραγωγής του dicofol, ένα μεγάλο ποσοστό από DDT διαρρέει στο περιβάλλον, ως ενδιάμεσο στην παραγωγή του (Qiu et al., 2005; Da et al., 2014).

2. ΜΗΤΡΙΚΟ ΓΑΛΑ

2.1 Ιδιότητες

Το μητρικό γάλα θεωρείται η ιδανική και η πλέον θρεπτική τροφή για ένα υγιές νεογνό κατά τη διάρκεια των πρώτων 4 έως 6 μηνών ζωής (Pham et al., 2020), ενώ η συνέχιση του θηλασμού για 1 έως 2 χρόνια ζωής του βρέφους έχει αναγνωριστεί ως κανονιστικό πρότυπο (WHO. Infant and young child nutrition, 2003)

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization-WHO) και η UNICEF (United Nations Children's Fund) δίνουν έμφαση στη σημασία της πρακτικής του μητρικού θηλασμού, καθώς και στην υποστήριξή του ως τρόπου βελτίωσης της υγείας των βρεφών και των μικρών παιδιών (Κουμάτου και Σοφιανού, 2015; WHO/UNICEF, 1990). Αυτό οφείλεται στη σωστή θρέψη των νεογνών και των παιδιών λόγω της σύστασής του και στην υγιή ανάπτυξη που τους παρέχει μέσω και των μη θρεπτικών βιοδραστικών παραγόντων που περιέχονται (Ofstedal, 2012). Τα βιοδραστικά μόρια δρουν ενάντια σε μολύνσεις ή φλεγμονές και συνεισφέρουν στη βρεφική ωρίμανση (Ballard and Morrow, 2013), τη θρέψη και το υγιές μικροβίωμα (Kaingade et al., 2017).

Η αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσιάζεται μειωμένη στα πρόωρα βρέφη κι έτσι συχνά εκτίθενται σε οξειδωτικό στρες (Georgeson et al., 2002; Baydas et al., 2002). Σύμφωνα με έρευνες, το μητρικό γάλα έχει αντιοξειδωτικές και ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες (Παρασκευά και Ίσαρη, 2012), καθώς παρουσιάζει υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από τα υποκατάστατα μητρικού γάλακτος (Shoji et al., 2003). Το ανθρώπινο γάλα έχει τη μέγιστη δυνατή αντιοξειδωτική ικανότητα, η οποία με την πάροδο του χρόνου κατά την αποθήκευσή του, μειώνεται. Για να διατηρηθεί η ικανότητα αυτή, θα πρέπει να αποθηκευτεί σε θερμοκρασία συντήρησης και όχι κατάψυξης, για σύντομο χρονικό διάστημα (Hanna et al., 2004).

Η σίτιση με μητρικό γάλα μειώνει τις πιθανές επιπτώσεις από μία πολύ μεγάλη γκάμα μολυσματικών ασθενειών (Heinig, 2004), όπως η διάρροια (Howie et al., 1990), η

βακτηριακή μηνιγγίτιδα (Cochi et al., 1986; Istre et al., 1985; Gartner et al., 2005), η ωτίτιδα (Saarinen, 1982), η λοίμωξη του ουροποιητικού (Marild et al., 2004) αλλά και του αναπνευστικού συστήματος (Oddy et al., 2003).

2.2 Σύσταση μητρικού γάλακτος

Για την ανάπτυξη του βρέφους, το γάλα της μητέρας παρέχει μικροθρεπτικά και μακροθρεπτικά συστατικά, ανοσολογικούς και αναπτυξιακούς παράγοντες, ορμόνες, ένζυμα, απαραίτητα λιπαρά οξέα, καθώς και άλλες βιολογικά δραστικές ενώσεις (Picciano, 2001).

Το 87% του μητρικού γάλακτος αποτελείται από νερό, εντός του οποίου περιέχονται τα συνολικά συστατικά. Η θρεπτική σύσταση ορίζεται από τις πρωτεΐνες, τους υδατάνθρακες και τα λίπη. Η μη θρεπτική σύσταση καθορίζεται από τις υδατοδιαλυτές και μη υδατοδιαλυτές βιταμίνες, τα μέταλλα και τα ιχνοστοιχεία (Παπακωνσταντίνου, 2017). Το ανθρώπινο γάλα, έχει μεταβαλλόμενη σύσταση, η οποία ποικίλλει ανάλογα με τη μητέρα και το στάδιο θηλασμού, όπως επίσης και τους περιβαλλοντικούς παράγοντες (Pham et al., 2020), με σκοπό να προσαρμοστεί στις ανάγκες του μωρού κατά την ανάπτυξη του.

Η μελέτη του Lonnerdal έδειξε ότι οι ολικές πρωτεΐνες στο ώριμο γάλα είναι χαμηλότερης συγκέντρωσης σε σχέση με το πρωτόγαλα, στο οποίο υπάρχουν σε αυξημένη συγκέντρωση (Lonnerdal et al., 2017). Εν αντιθέσει με τα λιπαρά, των οποίων η συγκέντρωση στο ώριμο γάλα είναι υψηλότερη (Thakkar et al., 2013).

2.3 Μακροθρεπτικά συστατικά

Λιπαρά

Το ανθρώπινο γάλα χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό και παλμιτικό οξύ. Τα λιπαρά είναι τα περισσότερο μεταβλητά μακροσυστατικά του μητρικού γάλακτος, κάτι που εξηγείται από το γεγονός ότι το πρωτόγαλα έχει 3 φορές μικρότερο περιεχόμενο σε λιπίδια συγκριτικά με το ώριμο γάλα (Saarela et al., 2005). Πάντως, το προφίλ των λιπαρών οξέων, ιδίως των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας, όπως το λινελαϊκό οξύ, ποικίλλει ανάλογα με τη διατροφή της μητέρας (Ballard and Morrow, 2013). Η χοληστερόλη του ανθρώπινου γάλακτος συμβάλλει στην ανάπτυξη του εγκεφάλου, του νευρικού ιστού, των μεταβολικών ενζύμων και των χολικών αλάτων στο νεογνό, χωρίς να υπάρχουν αρνητικές επιδράσεις στην καρδιαγγειακή λειτουργία, όπως

συμβαίνει στους ενήλικες. Το ένζυμο λιπάση, που περιέχεται στο γάλα, βοηθά στη διάσπαση των λιπαρών σε τριγλυκερίδια, καθιστώντας το πιο εύπεπτο για το ανώριμο πεπτικό σύστημα των βρεφών (Λεκάκου, 2013).

Πρωτεΐνες

Η συγκέντρωση πρωτεΐνης στο γάλα της μητέρας δεν επηρεάζεται από τη διατροφή της (Nommsen et al., 1991). Ωστόσο, οι συμπεριλαμβανόμενες πρωτεΐνες του διευκολύνουν την πέψη και την απορρόφηση από το πεπτικό σύστημα του βρέφους, χωρίς να κουράζουν τους νεφρούς και το ήπαρ του. Τα μωρά που θηλάζουν όχι μόνο καλύπτονται ενεργειακά από το μητρικό γάλα, αλλά επιπλέον αυξάνουν το βάρος τους με μικρότερες λαμβανόμενες ποσότητες τροφής συγκριτικά με τα βρέφη που διατρέφονται με γάλα φόρμουλας, εξαιτίας της μέγιστης απορρόφησης από το έντερο τους.

Το μητρικό γάλα συμπεριλαμβάνει όλα τα απαραίτητα αμινοξέα (δομική μονάδα των πρωτεϊνών) για τη σίτιση του βρέφους. Τα επίπεδα πρωτεϊνών μειώνονται με την πάροδο του χρόνου και συγκεκριμένα κατά τις πρώτες 4 με 6 εβδομάδες ζωής του νεογνού (Bauer and Gerstl, 2011). Οι πιο άφθονες πρωτεΐνες είναι η καζεΐνη, η α-λακταλβουμίνη, η λακτοφερρίνη, η εκκριτική ανοσοσφαιρίνη IgA, η λυσοζύμη και ο ορός της αλβουμίνης (Lonnerdal, 2004; Jensen, 1995). Έρευνες έχουν δείξει ότι η λακτοφερρίνη εμποδίζει την ανάπτυξη σιδηροδεσμευτικών βακτηρίων στο γαστρεντερικό σύστημα και η λυσοζύμη διαθέτει αντιφλεγμονώδη δράση, ενώ οι ανοσοσφαιρίνες καταπολεμούν την ανάπτυξη βακτηρίων (Παπακωνσταντίνου, 2017; Suskind and Lewinter-Suskind, 1993).

Υδατάνθρακες

Οι περιεχόμενοι υδατάνθρακες στο γάλα της μητέρας είναι σημαντική πηγή ενέργειας. Ο δισακχαρίτης λακτόζη είναι το κυριότερο σάκχαρο (Nommsen et al., 1991), ανάμεσα στους διάφορους ολιγοσακχαρίτες από τους οποίους αποτελείται το μητρικό γάλα (Gabielli et al., 2011).

Η σύσταση του γάλακτος σε λακτόζη αντιστοιχεί σε ποσοστό 4,8%, το οποίο αποδίδεται σε 40% ποσοστό των συνολικών θερμίδων που παρέχονται στο βρέφος μέσω του θηλασμού (Λεκάκου, 2013). Η λακτόζη ρυθμίζει την ένταση παραγωγής γάλακτος στο σώμα της μητέρας, αφού έχει παρατηρηθεί χαμηλή ένταση ροής όταν η σύνθεση της είναι χαμηλή, αλλά μεγάλη ένταση ροής όταν η σύνθεσή της είναι αυξημένη (Λεκάκου, 2013).

Οι ολιγοσακχαρίτες του μητρικού γάλακτος ευνοούν την ανάπτυξη ενός λακτοβάκιλλου (*Bifidus*), ο οποίος με τη σειρά του αναπτύσσει όξινη εντερική χλωρίδα,

περιβάλλον που είναι δυσμενές για την παρουσία παθογόνων βακτηρίων (Παπακωνσταντίνου, 2017). Συγκεκριμένα η λακτόζη, σε συνδυασμό με το ένζυμο λακτάση προστατεύει το βρέφος από εντερικές λοιμώξεις και προάγει την ανάπτυξη ισορροπημένης χλωρίδας στο έντερο, παρέχοντας την ομαλή λειτουργία του πεπτικού συστήματος. Ακόμα, βοηθάει στη σύνθεση βιταμινών του συμπλέγματος Β και στην ταχεία απορρόφηση του ασβεστίου, του φωσφόρου και του μαγνησίου, που είναι απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό. Η ποσότητα της λακτόζης ποικίλλει ελάχιστα κατά τη διάρκεια της ημέρας, σε αντίθεση με το λίπος. Εντούτοις, το πρωτόγαλα διαθέτει περιορισμένη ποσότητα λακτόζης, ενώ σημαντικά υψηλότερα είναι τα επίπεδα αυτής στο ώριμο γάλα (Λεκάκου, 2013; https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9C%CE%B7%CF%84%CF%81%CE%B9%CE%BA%CF%8C_%CE%B3%CE%AC%CE%BB%CE%B1).

2.4 Μικροθρεπτικά συστατικά

Βιταμίνες

Στα μικροθρεπτικά συστατικά συγκαταλέγονται οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες Β1 (θειαμίνη), Β2 (ριβοφλαβίνη), Β6 (πυριδοξίνη), Β12 (κοβαλαμίνη), το ιώδιο (Ballard and Morrow, 2013) και οι λιποδιαλυτές βιταμίνες Α (ρετινόλη), D και Κ. Η τελευταία βρίσκεται σε ιδιαίτερα χαμηλά επίπεδα στο μητρικό γάλα, οπότε συστήνεται στις μητέρες από την Αμερικάνικη Ακαδημία Παιδιάτρων (American Academy of Pediatrics) η πρόσληψη σε ενέσιμη μορφή, ώστε να αποφευχθούν αιμορραγικές ασθένειες στο νεογέννητο (Greer, 2001). Η βιταμίνη D, επίσης, παρουσιάζεται σε χαμηλή ποσότητα στο ανθρώπινο γάλα, κάτι που σχετίζεται πολύ με την έκθεση της μητέρας στον ήλιο, γεγονός που αποτελεί ένα παγκόσμιο φαινόμενο (Dawodu et al., 2014).

Θηλασμός και Παχυσαρκία

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας γνωστοποιεί ότι τα βρέφη και τα παιδιά που θηλάζουν, παρουσιάζουν σημαντικά λιγότερες πιθανότητες εμφάνισης παχυσαρκίας, συγκριτικά με εκείνα που θηλάζουν για λιγότερο από 6 μήνες ή και καθόλου (WHO, 2019). Η πρόληψη της παχυσαρκίας, σύμφωνα με μελέτες σε βρέφη που θηλάζουν σε σύγκριση με αυτά που τρέφονται αποκλειστικά με γάλα φόρμουλας, μπορεί να διαφέρει από 15 έως 30 ποσοστιαίες μονάδες (%) (Koletzko et al., 2009), ενώ η διάρκεια του θηλασμού διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο. Κάθε μήνας θηλασμού υποστηρίζεται ότι μειώνει τον κίνδυνο παχυσαρκίας κατά 4% (Stanley et al., 2009). Τα παραπάνω δεδομένα πιθανό να

σχετίζονται με το ιδιάζον μικροβίωμα του εντέρου, που αποκτούν τα βρέφη που θηλάζουν και με τον τρόπο που το μικροβίωμα αυτό συμβάλλει στη μελλοντική αποθήκευση του λίπους (Wall et al., 2009). Συν τοις άλλοις, αυξημένα επίπεδα της ορμόνης λεπτίνης ρυθμίζουν αφενός την όρεξη, δηλαδή την επιθυμία πρόσληψης τροφής, αφετέρου την αποθήκευση του λίπους (Savino et al., 2002; Dewey et al., 1986; Απέργη 2016).

2.5 Χρήση ουσιών από τη θηλάζουσα μητέρα

Η χρήση ουσιών ή κάποιων άλλων συνηθειών της μητέρας επηρεάζει τον όγκο του γάλακτος και τη σύστασή του.

Το κάπνισμα είναι πιθανό να μειώσει την ποσότητα του γάλακτος μέσω της επίδρασης που ασκεί στην προλακτίνη, ορμόνη που είναι απαραίτητη για μία φυσιολογική λακτογένεση αφού προάγει τη σύνθεση του γάλακτος (Pham et al., 2020). Το ολικό άζωτο πρωτεΐνης, η λακτόζη, ο περιεχόμενος φώσφορος, το ασβέστιο, δε διαφέρουν μεταξύ των δειγμάτων γάλακτος μητέρων καπνιστών έναντι των μη καπνιστών, εν αντιθέσει με το λίπος, του οποίου η συγκέντρωση στο γάλα καπνιστών μητέρων είναι χαμηλότερη (Hopkinson et al., 1992).

Ποσότητα αλκοόλ που εντοπίζεται στο αίμα της μητέρας που κάνει χρόνια χρήση αλκοολούχων ποτών, απεκκρίνεται εν μέρει και στο γάλα. Ωστόσο, η περιστασιακή κατανάλωση αλκοόλ έχει μικρή και προσωρινή επίδραση στην παραγωγή γάλακτος, καθώς επίσης δεν έχει γνωστοποιηθεί κάποια επιβλαβής επίδραση στο βρέφος από μέτρια κατανάλωση της μητέρας σε αλκοόλ, ειδικά εάν παρέλθουν 2 ώρες πριν το θηλασμό (Pham et al., 2020), καθώς το αλκοόλ παραμένει στο μητρικό γάλα για όσο χρόνο παραμένει και στο αίμα της μητέρας (Centers of Disease Control and Prevention. Fetal alcohol spectrum disorders (FASDs), 2018). Αν ο θηλασμός γίνει έπειτα από κατανάλωση δίχως να παρέλθει το απαραίτητο χρονικό διάστημα, αποτέλεσμα θα είναι η μειωμένη πρόσληψη γάλακτος από το βρέφος.

Η καφεΐνη αποτελεί την πλέον διαδεδομένη ψυχοτρόπο ουσία στον πλανήτη. Τα ευρήματα είναι διφορούμενα, όμως είναι πιθανό να προκαλέσει ευερεθιστότητα και διαταραχές ύπνου στα θηλάζοντα βρέφη, των οποίων οι μητέρες καταναλίσκουν περισσότερο από 10 φλιτζάνια ανά ημέρα (Ryu, 1985). Επιπλέον, όταν τα φλιτζάνια υπερβούν τα 3 σε αριθμό, τα βρέφη εμφανίζουν κίνδυνο μείωσης της απορρόφησης του σιδήρου που υπάρχει στο γάλα (Παπακωνσταντίνου, 2017).

2.6 Συντήρηση μητρικού γάλακτος

Ψύξη

Σε θερμοκρασία 4°C και για χρονικό διάστημα 4 ημερών μπορεί να αποθηκευτεί το φρέσκο μητρικό γάλα με ασφάλεια, μένοντας ακέραιο ως προς την τιμή pH, τη λευκοματίνη (albumin), τη λακτόζη, την ολική πρωτεΐνη και το λιπιδικό περιεχόμενο (Eglash and Simon, 2017; Goshal et al., 2012). Από την άλλη πλευρά, ανοσολογικοί και αναπτυξιακοί παράγοντες στο πύαρ μπορούν να παραμείνουν αμειώτοι σε ψύξη ίδιας θερμοκρασίας μόνο για 48 ώρες (Ramírez-Santana et al., 2012).

Κατάψυξη

Η κατάψυξη σε θερμοκρασία -4 ως -20 °C για τουλάχιστον 3 μήνες κρίνεται ασφαλής για το μητρικό γάλα. Πέραν των 90 ημερών, παρουσιάζεται αξιοσημείωτη πτώση του περιεχομένου σε λιπίδια και ενέργεια (García-Lara et al., 2012). Παράλληλα όμως, υπάρχει και σημαντική αύξηση της οξύτητάς του εξαιτίας της αύξησης των ελεύθερων λιπαρών οξέων από τη σταθερή και συνεχιζόμενη δράση της λιπάσης (Vázquez-Roman et al., 2016). Στο πρωτόγαλα, ορισμένες κυτοκίνες (κυτταροκίνες), η ανοσοσφαιρίνη A (IgA) κι άλλοι αναπτυξιακοί παράγοντες παραμένουν σταθεροί για τουλάχιστον 6 μήνες σε θερμοκρασία -20°C (Ramírez-Santana et al., 2012; Chang et al., 2012).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1. Σκοπός της μελέτης

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν:

A) διερεύνηση της σύστασης του μητρικού γάλακτος όσον αφορά τα θρεπτικά συστατικά του

B) η εκτίμηση της επιβάρυνσης του μητρικού γάλακτος από ουσίες που έχουν ενοχοποιηθεί ως ενδοκρινικοί διαταράκτες (όπως τα παραβένια, οι δισφαινόλες A, F και S, η τρικλοζάνη, τα DDTs (ορ και ppDDD, ορ και ppDDE, ορ και ppDDT) και το εξαχλωροβενζόλιο

Γ) Η μελέτη εκτίμησης κινδύνου από την πρόσληψη αυτών των ουσιών από τα βρέφη

Για την πραγματοποίηση της μελέτης ζητήθηκε και πάρθηκε έγκριση από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας της Έρευνας (Ε.Η.Δ.Ε.) του Πανεπιστημίου Κρήτης με αριθμό έγκρισης 97/24.04.2020.

3.2. Πληθυσμός

Συλλέχθηκαν 49 δείγματα μητρικού γάλακτος κατά το έτος 2020 σε συνεργασία με τη Μονάδα Νεογνολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου. Η λήψη του γάλακτος έγινε την πρώτη εβδομάδα μετά τον τοκετό από τις ίδιες τις μητέρες. Το δείγμα τοποθετήθηκε σε γυάλινα φιαλίδια των 50 ml και καταψύχθηκε στους -20°C μέχρι τη στιγμή της ανάλυσης του.

Ταυτόχρονα με την δειγματοληψία του γάλακτος συμπληρώθηκε κατάλληλα διαμορφωμένο ερωτηματολόγιο και συλλέχθηκαν πληροφορίες σε σχέση με διατροφικές συνήθειες, επίπεδο εκπαίδευσης, ιατρικό ιστορικό, τόπος κατοικίας κ.α. Υπόδειγμα ερωτηματολογίου παρουσιάζεται στο **Παράρτημα Α**.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται στοιχεία σχετικά με τον πληθυσμό της μελέτης. Η μέση ηλικία των γυναικών ήταν τα 33,6 έτη, το 64,6% προερχόταν από αστική περιοχή και το 35,4% από αγροτική περιοχή, ενώ τα ποσοστά των γυναικών με Α/βάθμια, Β/βάθμια και Γ/βάθμια εκπαίδευση ήταν 4,3%, 23,4% και 72,8% αντίστοιχα. Το 69,4%

δηλώνει κάποιο πρόβλημα στην παρούσα κύηση, ενώ το 52% χρειάστηκε να νοσηλευτεί κατά τη διάρκεια της κύησης. Επίσης, ένα 20,8% δηλώνει ότι πάσχει από μία χρόνια ασθένεια και το 26,5% αναφέρει κάποιο γυναικολογικό πρόβλημα. Η μέση τιμή του σωματικού βάρους των συμμετεχουσών γυναικών ήταν 70,7 κιλά πριν την εγκυμοσύνη και 80,2 κιλά στο τέλος της περιόδου κύησης.

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά των συμμετεχουσών γυναικών

Μέση Ηλικία (έτη)	33,6
Ύψος (cm)	16,7
Τόπος κατοικίας (περιοχή)	64,6 % αστική 35,4 % αγροτική
Σωματικό βάρος πριν την εγκυμοσύνη (κιλά)	70,7
Σωματικό βάρος μετά την εγκυμοσύνη (κιλά)	80,2
Επίπεδο μόρφωσης	A/βάθμια 4,3%, B/βάθμια 23,4 %, Γ/βάθμια 72,8%
Εξωσωματική γονιμοποίηση	22,9%
Προβλήματα στην παρούσα κύηση	69,4%
Νοσηλεία κατά τη διάρκεια της κύησης	52,0%
Χρόνιες ασθένειες	20,8%
Αναπνευστικά προβλήματα	6,1%
Αλλεργικά συμπτώματα	20,4%
Γυναικολογικό πρόβλημα	26,5%

3.3. Ανάλυση μητρικού γάλακτος ως προς τη σύστασή του

Η ανάλυση του μητρικού γάλακτος έγινε με τον αναλυτή Miris Human Milk Analyzer, ο οποίος απεικονίζεται στην εικόνα, στο Γενικό Νοσοκομείο ΕΛΕΝΑ ΒΕΝΙΖΕΛΟΥ, Αθήνα.



Συνοπτικά, στην μπλε υποδοχή (όπως απεικονίζεται στην παραπάνω εικόνα) εισάγονται 3 ml μητρικού γάλακτος, το οποίο έχει προθερμανθεί στους 40°C φροντίζοντας να μην υπάρχει καθόλου αέρας στη σύριγγα. Σε σύντομο χρονικό διάστημα, ο αναλυτής είναι σε θέση να παρέχει δεδομένα για τη σύσταση του γάλακτος και συγκεκριμένα για τα λιπαρά-fats (gr/100 ml), υδατάνθρακες-carbohydrates (gr/100 ml), ολικά στερεά-total solids (TS) (gr/100 ml), ακατέργαστες πρωτεΐνες-crude protein (gr/100 ml), πρωτεΐνες-true protein (gr/100 ml) και ενέργεια-energy (kcal/100 ml). Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την ανάλυση 18 δειγμάτων μητρικού γάλακτος (Πίνακες 2 και 3).

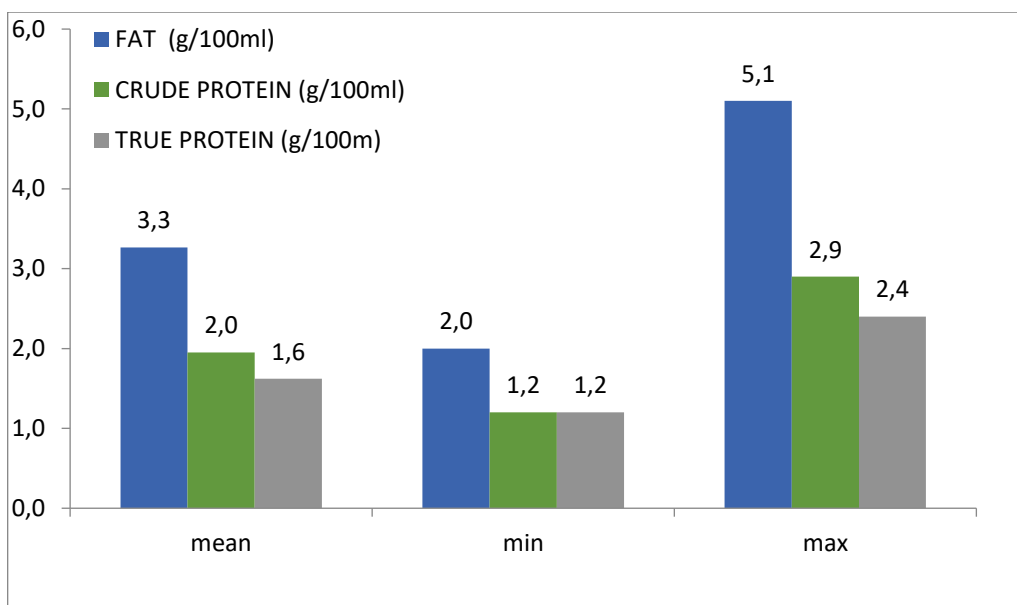
Πίνακας 2. Δεδομένα σύστασης ανά δείγμα μητρικού γάλακτος

ΔΕΙΓΜΑ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fats (g/100ml)	5,1	3,4	2,8	3,8	2,5	3,2	3,3	3,1	3,7	3,3
Crude protein (g/100ml)	1,5	1,7	1,9	1,7	2,2	1,6	2,2	1,9	2,9	2,8
Carbohydrates (g/100ml)	7,3	6,6	7,6	6,7	7,4	7,2	7,4	7,3	6,6	7,1
TS (g/100ml)	14,2	12,0	11,8	12,5	11,7	12,1	13,0	12,6	13,4	13,3
Energy (kcal/100ml)	83,0	66,0	68,0	70,0	67,0	65,0	63,0	67,0	74,0	73,0
True protein (g/100ml)	1,3	1,4	1,5	1,5	1,8	1,3	1,8	1,6	2,4	2,1

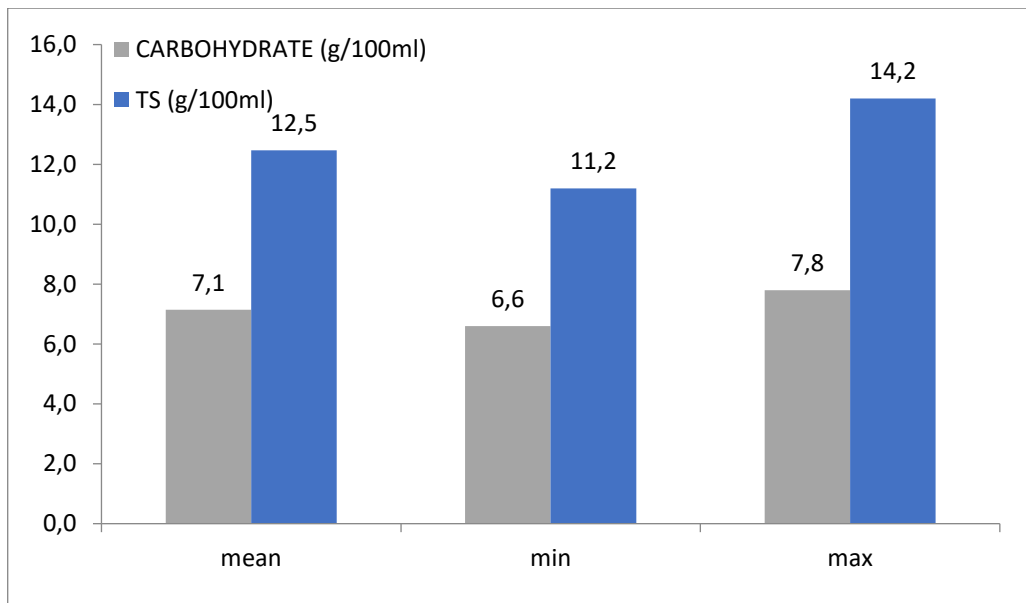
Πίνακας 3. Δεδομένα σύστασης ανά δείγμα μητρικού γάλακτος

ΔΕΙΓΜΑ	11	12	13	14	15	17	18	20
Fats (g/100ml)	2,1	2,0	2,9	2,8	3,6	4,3	3,7	3,2
Crude protein (g/100ml)	1,8	1,2	2,0	2,8	2,1	1,8	1,5	1,5
Carbohydrates (g/100ml)	7,4	7,8	7,1	6,9	6,6	6,6	7,3	7,7
TS (g/100ml)	11,4	11,2	12,3	12,1	12,6	12,9	12,6	12,7
Energy (kcal/100ml)	57,0	55,0	64,0	69,0	70,0	74,0	70,0	68,0
True protein (g/100ml)	1,4	1,3	1,7	2,3	1,8	1,5	1,2	1,3

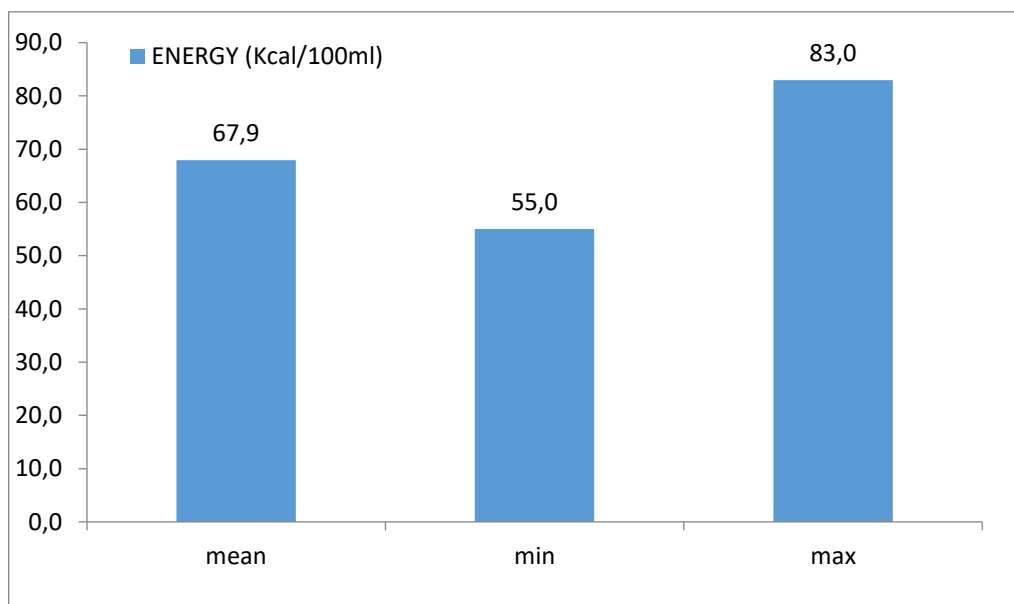
Οι μέσες τιμές για τα λιπαρά ήταν τα $3,3 \pm 0,7$ g/100 ml με διακύμανση από 2,0 έως 5,1 g/100ml, για τις ακατέργαστες πρωτεΐνες $2,0 \pm 0,5$ g/100ml με διακύμανση από 1,2 έως 2,9 g/100ml, για τους υδατάνθρακες $7,1 \pm 0,4$ g/100ml με διακύμανση από 6,6 έως 7,8 g/100ml, για τα ολικά στερεά $12,5 \pm 0,7$ g/100ml με διακύμανση από 11,2 έως 14,2 g/100ml, για την ενέργεια 67.9 ± 6.3 kcal/100ml με διακύμανση από 55 έως 83 kcal/100ml και τέλος για τις true πρωτεΐνες $1,6 \pm 0,4$ g/100ml με διακύμανση από 1,2 έως 2,4 g/100ml (Διαγράμματα 1, 2 και 3).



Διάγραμμα 1. Μέσες, ελάχιστες και μέγιστες τιμές για τα λιπαρά, τις ακατέργαστες πρωτεΐνες και τις true πρωτεΐνες στα δείγματα γάλακτος



Διάγραμμα 2. Μέσες, ελάχιστες και μέγιστες τιμές για τα ολικά στερεά και τους υδατάνθρακες δειγμάτων γάλακτος



Διάγραμμα 3. Μέσες, ελάχιστες και μέγιστες τιμές ενέργειας δειγμάτων γάλακτος

3.4. Προσδιορισμός των δισφαινολών, παραβενίων και τρικλοζάνης σε δείγματα μητρικού γάλακτος

3.4.1. Αντιδραστήρια

Το ακετονιτρίλιο ήταν βαθμού καθαρότητας LC-MS (LC-MS grade) από τη Honeywell–Riedel de Haën (Germany), το ένζυμο β-glucuronidase from helix pomatia και το β-glycuronidase/arylsulfatase from Escherichia Coli αγοράστηκε από τη Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, USA), όπως και οι ουσίες μεθυλ, αιθυλ, προπυλ, βουτυλ και βενζυλ παραβένια, οι δισφαινόλες S και F και η τρικλοζάνη. Η δισφαινόλη A αγοράστηκε από την Aldrich. Το magnesium sulphate ήταν από την εταιρεία Labkem, το sodium chloride ($\geq 99\%$) από την Fluka-honeywell, το PSA από τη Supelco και το οξικό αμμώνιο ($\geq 98\%$) αγοράστηκε από τη Sigma – Aldrich (St. Louis, MO, USA). Υπερκάθαρο νερό λαμβανόταν από συσκευή nanopure water της εταιρείας Merck.

3.4.2. Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων

Αρχικά έγινε παρασκευή του εσωτερικού προτύπου (IS) της φαινοβαρβιτάλης (phenobarbital) σε συγκέντρωση 10 ppm, καθώς και πρότυπα διαλύματα (stocks) των ενώσεων παραβένια, δισφαινόλες, τρικλοζάνη με συγκέντρωση 10 ppm, από τα οποία παρήχθησαν νέα πολυσυστατικά διαλύματα παραβενίων, δισφαινολών και τρικλοζάνης σε συγκεντρώσεις 100, 10, 1, 0.1 ppm, έπειτα από διαδοχικές αραιώσεις. Στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν 6 πρότυπα πολυσυστατικά διαλύματα με συγκεντρώσεις 0, 25, 50, 100, 250, 500 ng/ml, που χρησιμοποιήθηκαν για την βαθμονόμηση του αναλυτικού συστήματος. Όλα τα διαλύματα αποθηκεύτηκαν σε κατάψυξη στους -20°C .

3.4.3. Παρασκευή επιμολυσμένων δειγμάτων

Παρασκευάστηκαν επιμολυσμένα (spiked) δείγματα γάλακτος σε συγκεντρώσεις 0, 0,25, 0,5, 1, 4 και 8 ng/ml. Τα δείγματα προέκυψαν από μίγμα δειγμάτων μητρικού γάλακτος με μη ανιχνεύσιμα επίπεδα αναλυτών ή από δείγματα με ιχνοποσότητες των προς ανάλυση ουσιών. Ως εσωτερικό πρότυπο επιλέχθηκε η ουσία φαινοβαρβιτάλη σε συγκέντρωση 500 ng/ml. Με χρήση των παραπάνω φορτισμένων δειγμάτων παρασκευάστηκαν οι αντίστοιχες καμπύλες βαθμονόμησης, που χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων των ουσιών στα άγνωστα δείγματα γάλακτος.

3.4.4. Οργανολογία

Υγρή Χρωματογραφία – Φασματομετρία Μάζας (LC-MS)

Για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των παραβενίων, δισφαινολών και τρικλοζάνης χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας συζευγμένο με ένα φασματόμετρο μαζών της εταιρίας Shimadzu (μοντέλο LC-MS 2010 EV), με πηγή ιονισμού APCI (χημικός ιονισμός υπό ατμοσφαιρική πίεση) και αναλυτή απλού τετραπόλου μάζας (quadropole mass filter).

3.4.5. Μεθοδολογία επεξεργασίας δειγμάτων μητρικού γάλακτος για την ανίχνευση της τρικλοζάνης, των παραβενίων και των δισφαινολών

Για την απομόνωση των προς ανάλυση ουσιών ακολουθήθηκε δημοσιευμένη με σχετικές τροποποιήσεις διαδικασία εκχύλισης (Dualde et al. 2019 και 2020).

Συγκεκριμένα σε 5 ml γάλακτος προστίθενται 20 ml 2M phosphoric acid, 40 ml β-glucuronidase και 10 ml β-glucuronidase-sulfate και το δείγμα επωάζεται στους 50°C για 4 ώρες. Στην συνέχεια, προστίθενται 7,5 ml ακετονιτριλίου και ακολουθεί υγρή-υγρή εκχύλιση για 10 λεπτά με μηχανική ανακίνηση. Στην συνέχεια το δείγμα τοποθετείται στους -20°C για 10 λεπτά. Προστίθενται 2 gr MgSO₄, 1 gr sodium citrate tribase, 1 gr NaCl και 0,5 gr sodium citrate dibase και ακολουθεί εκχύλιση για ακόμα 10 λεπτά και απομόνωση της οργανικής στοιβάδας με φυγοκέντρηση στις 4000 rpm για 4 λεπτά.

Στην απομονωμένη οργανική στοιβάδα προστίθενται 400 mg PSA και 0,6 gr MgSO₄, αναδεύεται για 10 λεπτά, φυγοκεντρείται για 4 λεπτά στις 4000 rpm και απομονώνεται η οργανική στοιβάδα, που στην συνέχεια εξατμίζεται μέχρι ξηρού σε στρώμα αζώτου. Η επανασύσταση γίνεται με 100 ml ακετονιτριλίου και μεταφορά σε φιαλίδια των 2 ml (στο εσωτερικό των οποίων είχαν τοποθετηθεί inserts) για ανάλυση στο σύστημα LC-MS.

3.4.6. Συνθήκες χρωματογραφίας

Ο διαχωρισμός των ουσιών έγινε σε κολώνα Discovery C18 25cm, 4,6 mm, 5 μm της εταιρίας Supelco, τοποθετημένη σε φούρνο με σταθερή θερμοκρασία 30°C. Οι διαλύτες κινητής φάσης που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 5 mM οξικό αμμώνιο (διαλύτης A) και ακετονιτρίλιο (διαλύτης B). Το βαθμιδωτό πρόγραμμα ροής των διαλυτών κινητής φάσης ξεκινούσε από 15% διαλύτη B για 1 λεπτό, αυξανόταν στο 95% για τα επόμενα 20 λεπτά, όπου και έμεινε σταθερό για επιπλέον 4 λεπτά. Η ροή του διαλύτη έκλουσης ήταν 0.6 ml/min και η συνολική διάρκεια του προγράμματος για κάθε δείγμα ήταν 25 λεπτά. Οι

θερμοκρασίες λειτουργίας του συστήματος ήταν interface temperature 400°C, heat block temperature 200°C και CDL temperature 200°C. Η ροή του nebulizing gas ρυθμίστηκε στα 2,5 L/min. Ο ιονισμός επιτεύχθηκε με πηγή APCI(-), ενώ για την λήψη των χρωματογραφημάτων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος SIM (Selecting Ion Monitoring). Παρακάτω παρουσιάζονται οι χρόνοι έκλουσης, το κύριο και τα δευτερεύοντα ιόντα για κάθε ουσία.

Στο **Παράρτημα Β** παρουσιάζονται χρωματογραφήματα πρότυπων διαλυμάτων, επιμολυσμένων δειγμάτων και δειγμάτων μητρικού γάλακτος θετικά ως προς τις υπό διερεύνηση ουσίες.

Πίνακας 4. Χρόνοι έκλουσης σε (min), μοριακά βάρη και ιόντα (m/z) των υπό διερεύνηση ουσιών

		Rt (min)	target ion	Q ion	Mw
Bisphenol S	BPS	13,05	249,05	285,05	250,27
methyl paraben	MenP	14,0	151,05	194	152,15
ethyl paraben	EthP	15,85	165,05	208,1	166,18
Bisphenol F	BPF	15,85	197,05	199,05	200,23
propyl paraben	ProP	17,5	179,0	239	180,2
Bisphenol A	BPA	18,9	227,15	273,2	228,29
benzyl paraben	BenzP	18,95	227,1	287,15	228,43
butyl paraben	ButP	19,0	193,05	236,05	194,23
Triclosan	TCS	23,1	286,95	289	289,54
phenobarbital	IS	13,3	231,05	-	232,23

3.4.7. Αναλυτικές παράμετροι εφαρμοζόμενης μεθοδολογίας

Έγινε αξιολόγηση της εφαρμοζόμενης μεθοδολογίας όσον αφορά βασικές αναλυτικές παραμέτρους, όπως το όριο ανίχνευσης (υπολογισμένο με βάση το λόγο σήματος προς το θόρυβο (S/N)), γραμμικότητα, ανάκτηση και ακρίβεια μετρήσεων, οι τιμές των οποίων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα. Η γραμμικότητα (r^2) των πρότυπων διαλυμάτων κυμαινόταν από 0,9668 για την δισφαινόλη F έως 0,9986 για το βουτυλ παραβένιο. Οι αντίστοιχες τιμές για τα επιμολυσμένα δείγματα ήταν από 0,9839 για το

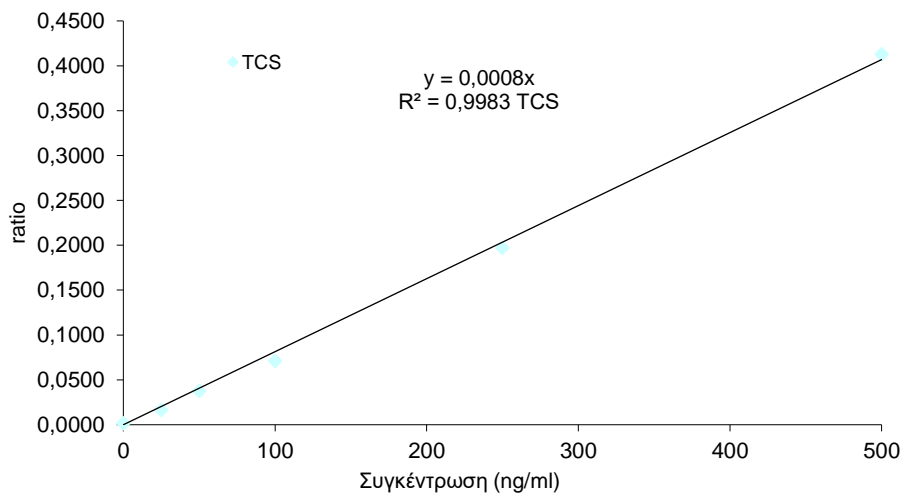
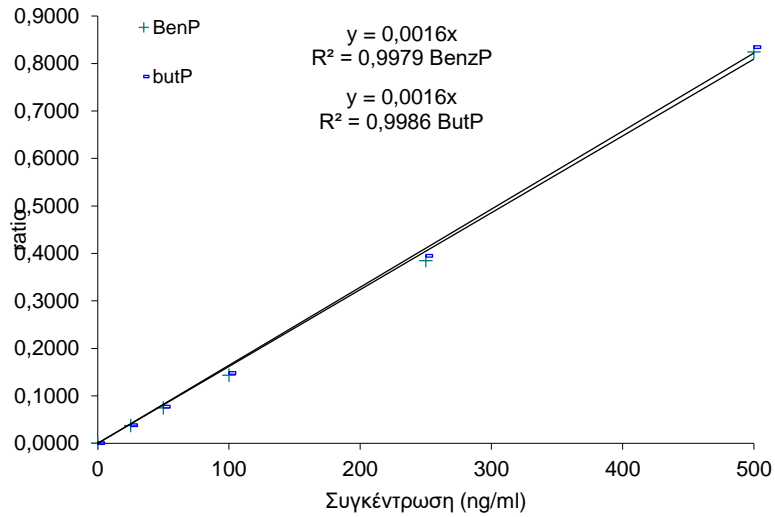
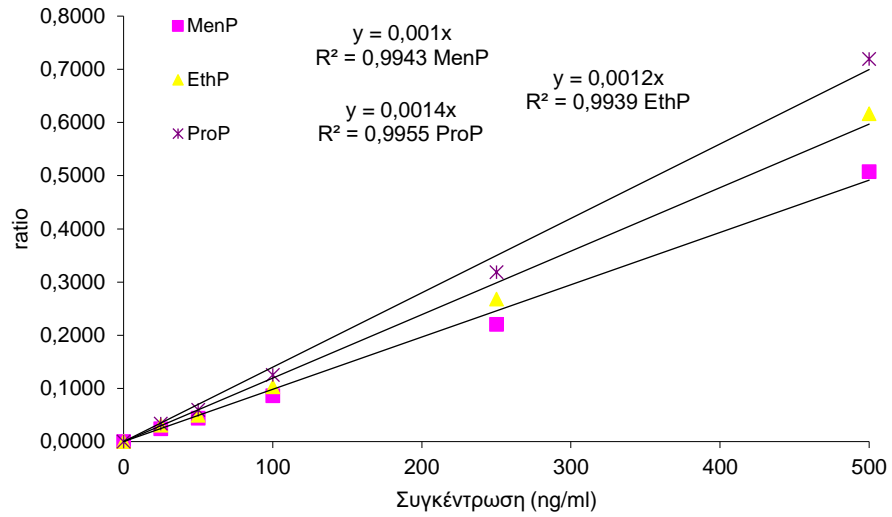
προπυλ παραβένιο έως 0,9948 για το μεθυλ παραβένιο (Διάγραμμα 4 και 5). Τα όρια ανίχνευσης (LOD) κυμαίνονταν από 0,01 ng/ml για το προπυλ παραβένιο και την τρικλοζάνη έως 0,32 ng/ml για τη δισφαινόλη F.

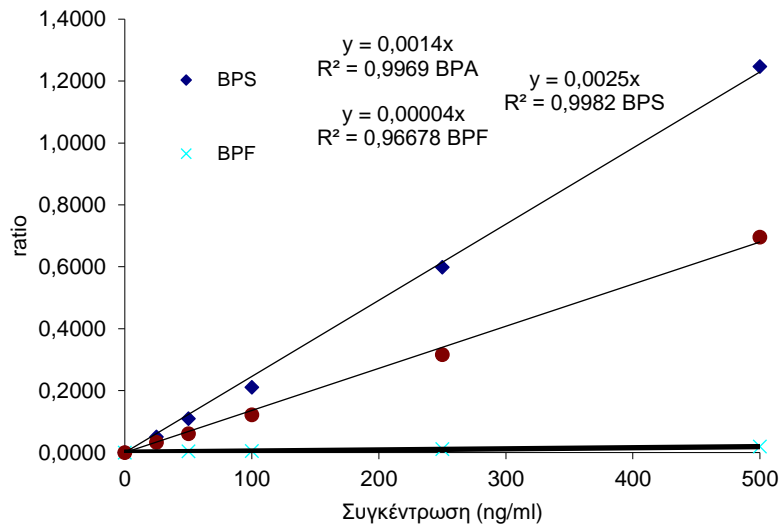
Οι τιμές % ανάκτησης κυμαίνονταν σε αποδεκτά ποσοστά από 81,5 % (δισφαινόλη A) έως 121,7% για τη δισφαινόλη F, εκτός από τη δισφαινόλη S, της οποίας η αντίστοιχη τιμή ήταν 24,2%. Οι τιμές της % ακρίβειας των μετρήσεων (% accuracy) ήταν από 80,0% (για το βενζυλ παραβένιο) έως 114,2% (για την τρικλοζάνη). Οι αναλυτικές παράμετροι της εφαρμοζόμενης μεθοδολογίας παρουσιάζονται εκτενώς στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5. Αναλυτικές παράμετροι των υπό διερεύνηση ουσιών

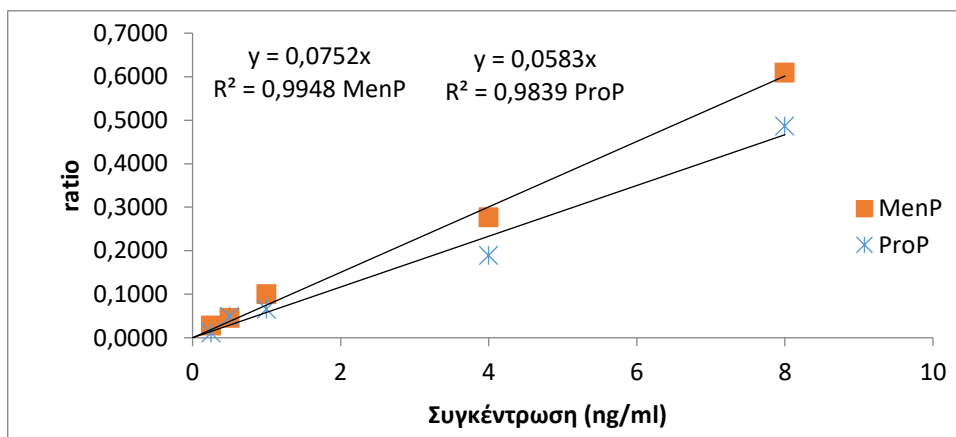
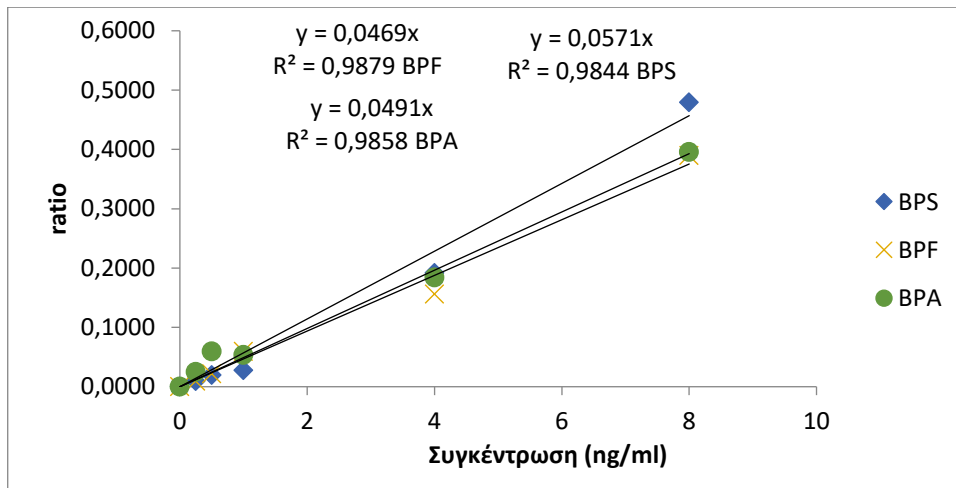
	r^2 (πρότυπα)	r^2 (επιμολυσμένα)	LOD (ng/ml)	% ανάκτηση (n=4)	% ακρίβεια (n=4)
BPS	0,9982	0,9844	0,07	24,2	85,6
MenP	0,9943	0,9948	0,05	98,6	90,0
EthP	0,9939	0,9887	0,03	102,3	96,3
BPF	0,9668	0,9879	0,32	121,7	85,4
ProP	0,9955	0,9839	0,01	99,7	106,2
BPA	0,9969	0,9858	0,05	81,5	98,3
BenzP	0,9979	0,9902	0,04	87,7	80,0
ButP	0,9986	0,9896	0,02	84,2	82,1
TCS	0,9983	0,994	0,01	97,0	114,2

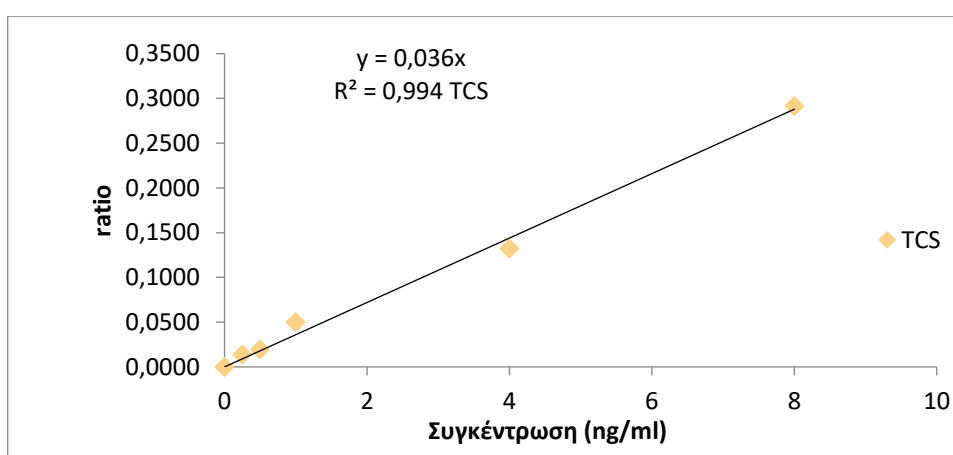
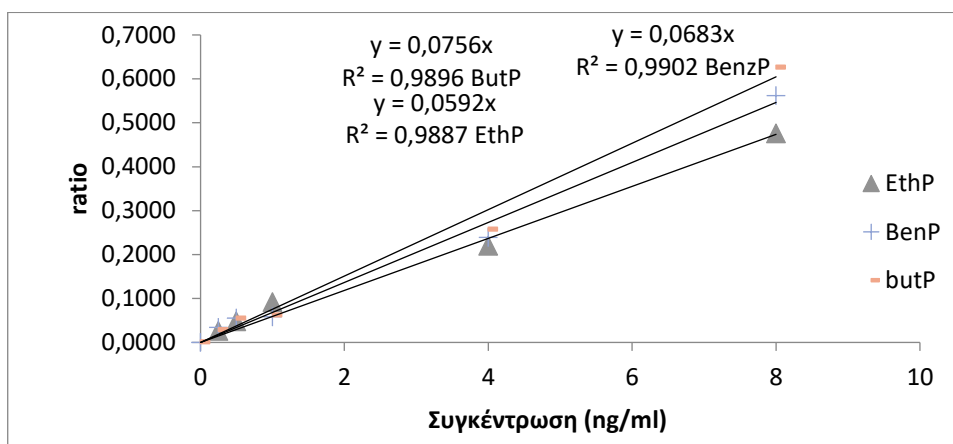
Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται οι καμπύλες βαθμονόμησης των υπό εξέταση ουσιών σε πρότυπα και επιμολυσμένα δείγματα.





Διάγραμμα 4. Καμπύλες βαθμονόμησης των πρότυπων διαλυμάτων των υπό εξέταση ουσιών





Διάγραμμα 5. Καμπύλες βαθμονόμησης των επιμολυσμένων δειγμάτων των υπό εξέταση ουσιών

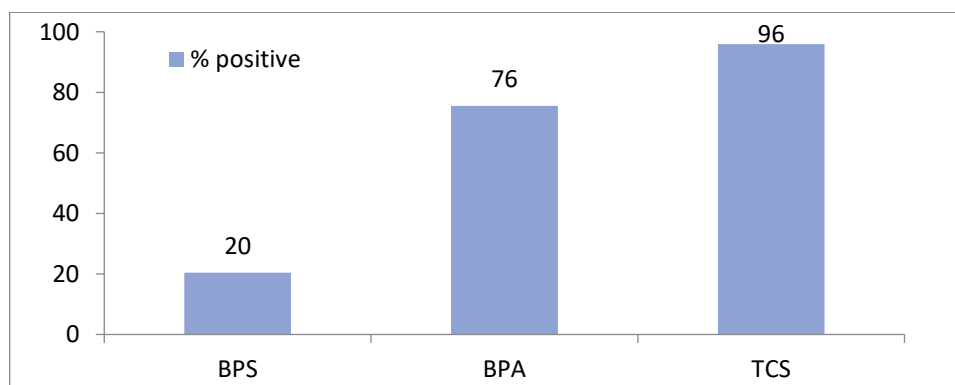
3.4.8. Ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις των δισφαινολών, των παραβενίων και της τρικλοζάνης σε δείγματα μητρικού γάλακτος

Στο **Παράρτημα Γ** δίνονται αναλυτικά οι ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις για κάθε δείγμα γάλακτος χωριστά, ενώ στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 6**) οι μέσες \pm SD και οι διάμεσες συγκεντρώσεις, τα εύρη των συγκεντρώσεων και τα ποσοστά των θετικών δειγμάτων.

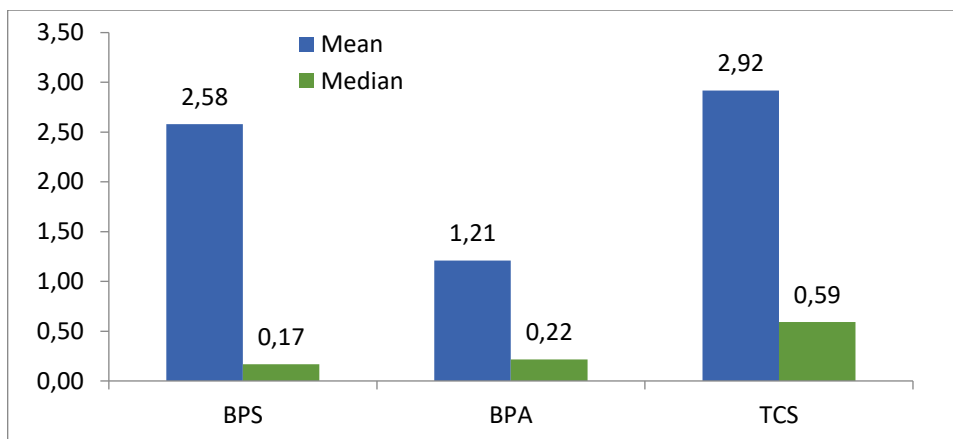
Πίνακας 6. Μέσες, διάμεσες, ελάχιστες και μέγιστες συγκεντρώσεις των ουσιών στα δείγματα γάλακτος και τα ποσοστά % θετικότητας

(ng/ml)	BPS	MenP	EthP	ProP	BPA	BenzP	ButP	TCS
Μέσες τιμές	2,58	11,88	10,18	2,49	1,21	1,76	0,29	2,92
±SD	6,24	44,32	44,92	4,48	4,27	6,25	0,24	7,82
Διάμεσες τιμές	0,17	0,94	0,67	0,78	0,22	0,23	0,25	0,59
Ελάχιστη	0,07	0,09	0,16	0,09	0,05	0,07	0,02	0,06
Μέγιστη	19,99	293,80	245,39	17,56	25,81	32,62	1,02	46,49
% θετικά δείγματα	20	96	61	80	76	55	55	96

Σε κανένα δείγμα γάλακτος δεν ανιχνεύτηκε η δισφαινόλη F. Η δισφαινόλη S ανιχνεύθηκε στο 20% των δειγμάτων με μέση τιμή τα 2,58 ng/ml (εύρος 0,07-19,99 ng/ml), ενώ η δισφαινόλη A στο 76% των δειγμάτων με μέση την τιμή 1,21 ng/ml (0,05-25,81 ng/ml). Η τρικλοζάνη (μαζί με το μεθυλ παραβένιο) έδωσε τα υψηλότερα ποσοστά θετικών δειγμάτων (96%) με ανιχνευόμενες τιμές από 0,06 έως 46,49 ng/ml και μέση τιμή τα 2,92 ±7.82 ng/ml (Διάγραμμα 6 και 7).



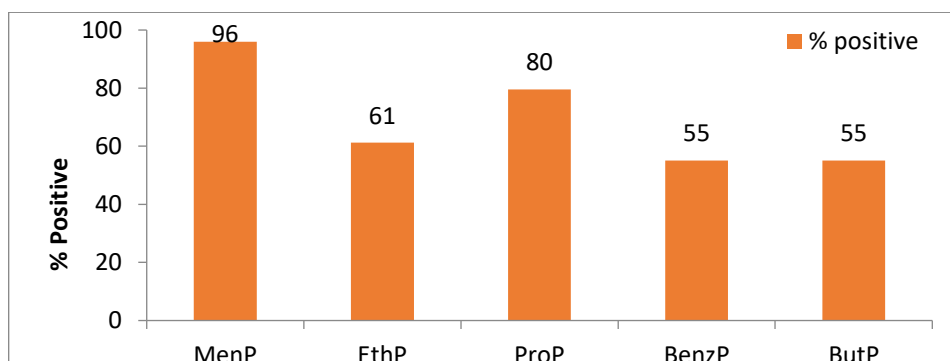
Διάγραμμα 6. Ποσοστά (%) θετικών δειγμάτων για τις δισφαινόλες και την τρικλοζάνη



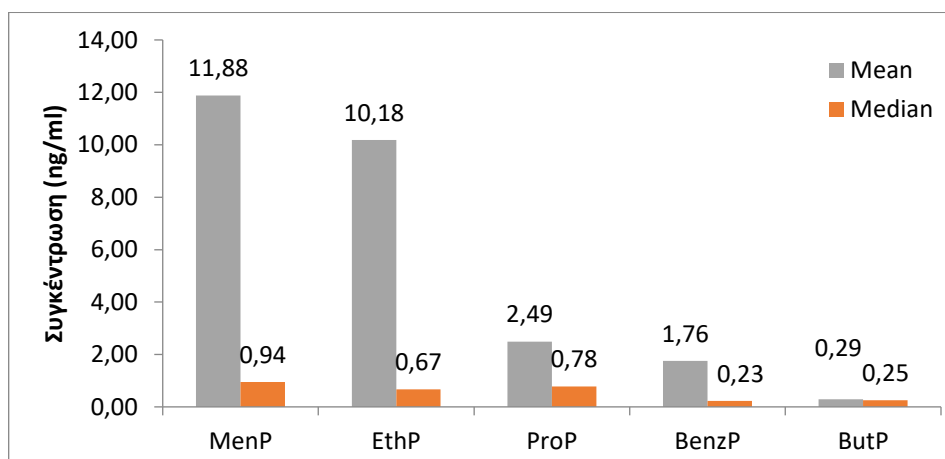
Διάγραμμα 7. Μέσες και διάμεσες τιμές συγκεντρώσεων για τις δισφαινόλες και την τρικλοζάνη

Όσον αφορά τα παραβένα, υψηλά ποσοστά θετικότητας παρατηρήθηκαν για όλες τις ουσίες από 96% για το μεθυλ ως 55% για το βουτυλ και το βενζυλ παραβένια (Διάγραμμα 8) με μέσες ανιχνευόμενες τιμές τα 11,88, 10,18, 2,49, 0,29 και 1,76 ng/ml για το μεθυλ, αιθυλ, προπυλ, βουτυλ και βενζυλ αντίστοιχα. Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται τα % ποσοστά θετικότητας των ουσιών, όπως επίσης και οι μέσες και διάμεσες ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις.

Γενικά, το βουτυλ και το βενζυλ παραβένιο είναι αυτά που παρουσιάζουν τη μικρότερη επιβάρυνση, τόσο στις ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις, όσο και στη συχνότητα εμφάνισης (<55%). Τα μεθυλ και προπυλ εμφανίζονται σε μεγαλύτερη συχνότητα από όλα τα υπόλοιπα παραβένια (>80%), όμως όσον αφορά την ένταση της επιβάρυνσης οι μεγαλύτερες μέσες τιμές αποδίδονται στο μεθυλ (11,88 ng/ml) και στο αιθυλ παραβένιο (10,18 ng/ml) (Διάγραμμα 9).



Διάγραμμα 8. Ποσοστά (%) θετικών δειγμάτων γάλακτος για τα παραβένια



Διάγραμμα 9. Μέσες και διάμεσες τιμές συγκεντρώσεων των παραβενίων στα δείγματα μητρικού γάλακτος

3.4.9. Μελέτη εκτίμησης κινδύνου

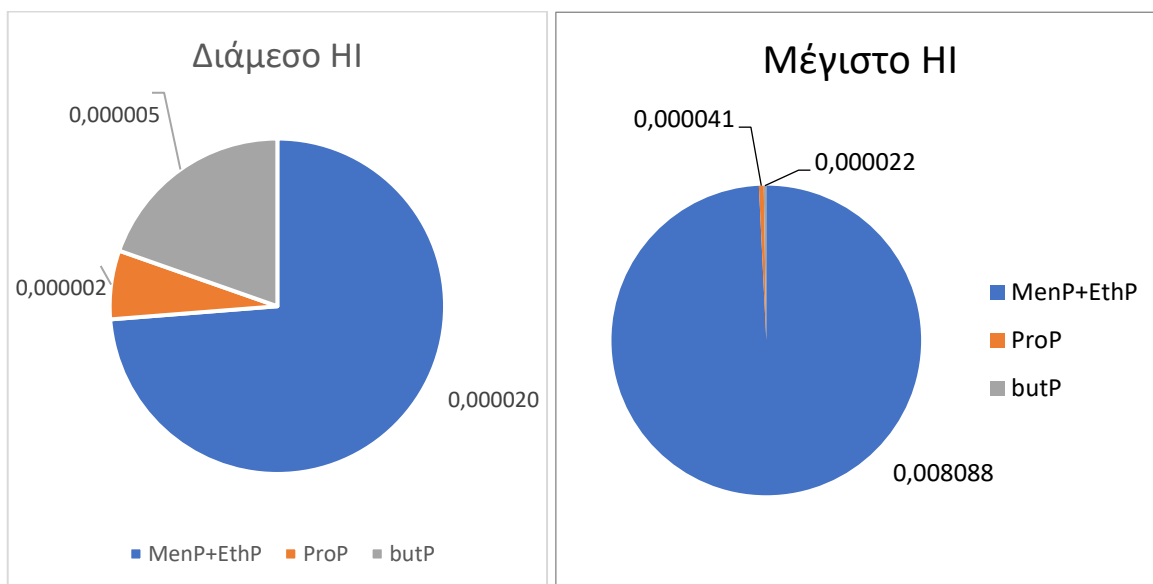
Για την εκτίμηση του κινδύνου έκθεσης των νεογνών από την λήψη αυτών των ουσιών μέσω της κατανάλωσης του μητρικού γάλακτος έγινε προσπάθεια να προσδιοριστεί ο δείκτης κινδύνου (Hazard index -HI) και η ημερήσια πρόσληψη (Estimated Daily Intake-EDI) για κάθε ουσία.

Για τον υπολογισμό του HI έγινε χρήση του τύπου $HI = EDI/ADI$. Οι τιμές του EDI ($\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$) υπολογίστηκαν από την σχέση $EDI = C(\mu\text{g}/\text{L}) * M (\text{L}/\text{Kg bw}/\text{day})$, όπου M η μέση ημερήσια πρόσληψη γάλακτος που σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας είναι τα $0,15 \text{ L}/\text{Kg bw}/\text{day}$.

Για τις ουσίες μεθυλ και αιθυλ παραβένιο έχει καθοριστεί ADI (Acceptable Daily Intake) τιμή τα $10000 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ για το άθροισμα τους. Για το προπυλ και το βουτυλ παραβένιο δεν έχει οριστεί από τον EFSA όριο ADI, οπότε χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές του NOAEL (No-observed-adverse-effect level) που αναφέρεται ότι είναι τα $6500 \text{ mg}/\text{kg bw}$ και $700 \text{ mg}/\text{kg bw}$ αντίστοιχα, διορθωμένες με ένα παράγοντα 100 σύμφωνα και με μελέτη του Dualde και των συνεργατών του (Dualde et al., 2020).

Στα παρακάτω σχήματα παρουσιάζονται οι διάμεσες τιμές του HI, όπως αυτές υπολογίστηκαν με βάση τις ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις των ουσιών στα δείγματα μητρικού γάλακτος. Παρατηρείται πως για όλα τα παραβένια οι τιμές του HI είναι πολύ

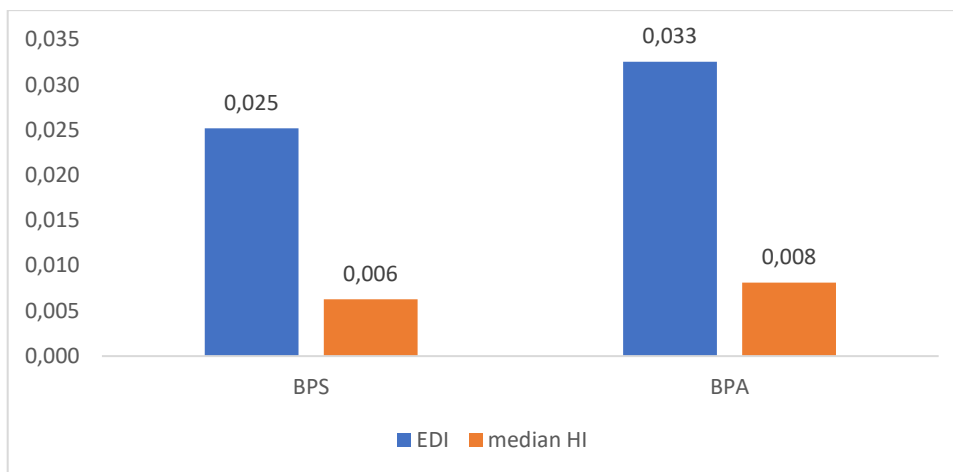
χαμηλότερες από το 1, κάτι που δηλώνει πολύ μικρό κίνδυνο για τα νεογνά για την πρόσληψη των ουσιών αυτών μέσω της διατροφής τους. Η μεγαλύτερη επιβάρυνση παρατηρείται για το άθροισμα των μεθυλ και αιθυλ παραβενίων (HI 0,00002), τα οποία έδωσαν και τις μεγαλύτερες διάμεσες τιμές ανιχνευόμενων συγκεντρώσεων, ακολουθεί το βουτυλ παραβένιο και (HI 0,000005) και τέλος το προπυλ παραβένιο με (HI 0,000002).



Διάγραμμα 10. Οι διάμεσες και μέγιστες τιμές του HI για τα μεθυλ, αιθυλ, προπυλ και βουτυλ παραβένια

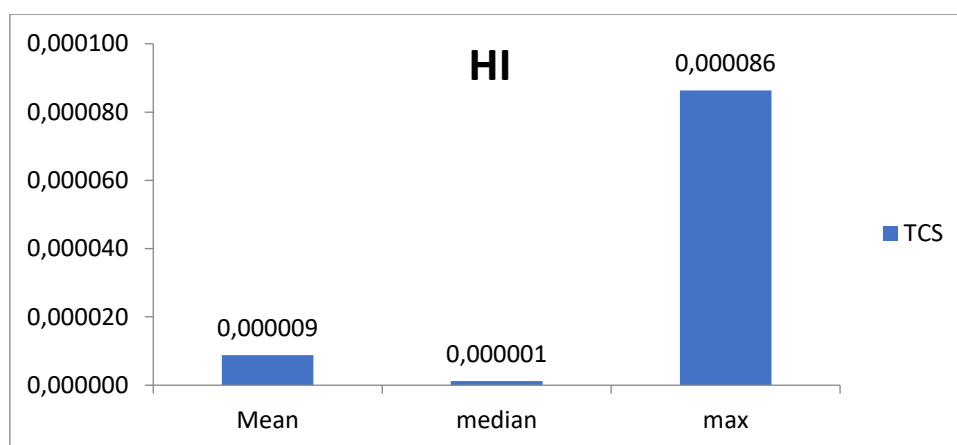
Οι διάμεσες τιμές του EDI για τα μεθυλ, αιθυλ, προπυλ και βουτυλ παραβένια υπολογίστηκαν στα 0,14, 0,1, 0,11 και 0,04 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ με μέγιστες τα 44,07, 36,81, 2,63 και 0,15 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$. Οι αντίστοιχες διάμεσες τιμές, συγκριτικά με τη βιβλιογραφία και σύμφωνα με την μελέτη του Dualde, είναι 0,03, 0,014, 0,015 και 0,014 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ αντίστοιχα (Dualde et al. 2019).

Καθότι δεν υπάρχει ορισμένη ADI τιμή για τη δισφαινόλη S, οι σχετικοί υπολογισμοί έγιναν με το αντίστοιχο όριο της δισφαινόλης A όπως αυτό έχει οριστεί από τον EFSA στα 4 $\mu\text{g}/\text{kg bw}$. Οι διάμεσες τιμές του HI είναι πολύ χαμηλότερες του 1 για την δισφαινόλη S και A, αφού υπολογίστηκαν στα 0,006 και 0,008 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ με αντίστοιχες μέγιστες EDI τιμές τα 0,025 και 0,033 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ αντίστοιχα (Διάγραμμα 11). Σύμφωνα με την προηγούμενη μελέτη του Dualde et al. 2019, οι αναφερόμενες τιμές του EDI για την δισφαινόλη A ήταν τα 0,04 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$.



Διάγραμμα 11. Οι διάμεσες Hazard Index (HI) και EDI τιμές για τις δισφαινόλες A και S

Ομοίως, για την τρικλοζάνη χρησιμοποιήθηκε η τιμή του NOAEL η οποία είναι τα 5000 mg/kg bw/day. Σχετικά με την τρικλοζάνη η διάμεση EDI τιμή ήταν τα 0,09 μg/kg bw/day, με μέγιστη τα 6,97 μg/kg bw/day, ενώ οι αναφερόμενες αντίστοιχες μέσες τιμές στην βιβλιογραφία ήταν 5,7 μg/kg bw/day (Dayan et al 2007) και 0,008 μg/kg bw/day (Arbuckle et al., 2015), η τελευταία όμως υπολογισμένη με βάση το γεωμετρικό μέσο των συγκεντρώσεων. Από την άλλη, οι μέσες υπολογισμένες τιμές του HI, όπως απεικονίζονται στο παρακάτω διάγραμμα (**Διάγραμμα 12**), ήταν πολύ μικρότερες από τη μονάδα υποδεικνύοντας περιορισμένο κίνδυνο για την υγεία των νεογνών.



Διάγραμμα 12. Μέση, διάμεση και μέγιστη τιμή HI για την τρικλοζάνη

3.5. Προσδιορισμός των DDTs και HCB σε δείγματα μητρικού γάλατος

3.5.1. Αντιδραστήρια

Οι πρότυπες ουσίες των opDDE, ppDDE, opDDD, ppDDD, opDDT, ppDDT αγοράστηκαν από την εταιρεία Dr. Ehrenstorfer Laboratories (Augsburg, Germany). Το κανονικό εξάνιο από την Sigma-Aldrich και το διχλωρομεθάνιο από την Fluka. Το πυκνό θειικό οξύ (98%) ήταν από την εταιρεία Merck.

3.5.2. Παρασκευή πρότυπων και επιμολυσμένων διαλυμάτων

Παρασκευάστηκαν πρότυπα (stock) διαλύματα του HCB, op και ppDDT, op και ppDDE, op και ppDDD σε συγκέντρωση 1 mg/ml και στην συνέχεια παρασκευάστηκαν πολυσυστατικά διαλύματα συγκεντρώσεων 100 και 10 ppm, από τα οποία έπειτα προέκυψαν διαλύματα συγκεντρώσεων 0, 0,25, 0,5, 1, 2 και 5 ng για την βαθμονόμηση του αναλυτικού συστήματος (GC-MS).

Για την παρασκευή των επιμολυσμένων δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν δείγματα μητρικού γάλατος με μη ανιχνεύσιμα ή σε πολύ χαμηλά επίπεδα των ανιχνευόμενων ουσιών και επιμολύνθηκαν στα επίπεδα 0, 0,25, 0,5, 1, 2,5 και 5 ng/ml. Ως εξωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε το 1,2,3,4-Tetrachloronaphthalene (TCN) (10 ng). Τα παραπάνω δείγματα χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των καμπύλων βαθμονόμησης, αλλά και την επικύρωση της μεθοδολογίας. Στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακα 7**) παρουσιάζονται οι χρόνοι έκλουσης και το κύριο και δευτερεύοντα ιόντα που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση των ουσιών.

Πίνακας 7. Χρόνοι έκλουσης (σε min) και ιόντα παρακολούθησης των υπό διερεύνηση ουσιών

Analytes	Rt	target m/z	m/z	m/z
HCB	15,33	284	249	214
TCN	19,82	266	194	-
opDDE	22,36	246	318	176
ppDDE	23,69	246	318	176
opDDD	23,99	235	165	199
ppDDD & opDDT	25,51	235	165	199
ppDDT	27,16	235	165	199

3.5.3. Μεθοδολογία εκχύλισης

Για την απομόνωση των ουσιών από το μητρικό γάλα εφαρμόστηκε εν μέρει δημοσιευμένη μεθοδολογία (Tsakiris et al. 2015; Camproy et al. 2001) με τις απαραίτητες τροποποιήσεις.

Σε 5 ml γάλακτος προστίθενται 2,5 ml μεθανόλης και 0,1 gr sodium oxalate. Ακολουθεί ανακίνηση και εκχύλιση με 5 ml diethyl ether-hexane (1:1) για 5 λεπτά. Με το πέρας της εκχύλισης, η οργανική στοιβάδα απομονώνεται με φυγοκέντριση στις 4000 rpm για 4 λεπτά. Η εκχύλιση επαναλαμβάνεται με προσθήκη 5 ml diethyl ether-hexane, η οργανική στοιβάδα απομονώνεται και ενώνεται με αυτή της προηγούμενης εκχύλισης. Οι οργανικές στοιβάδες εξατμίζονται μέχρι ξηρού σε στρώμα αζώτου και στην συνέχεια επαναδιαλύονται σε 2 ml εξανίου.

Ακολουθεί προσθήκη 0,5 ml πυκνού θεικού οξέος και εκχύλιση για 5 λεπτά. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για άλλες δύο φορές. Οι οργανικές στοιβάδες συνενώνονται και εξατμίζονται μέχρι ξηρού. Πραγματοποιείται επαναδιαλυτοποίηση του στερεού υπολείμματος σε 100 µl εξανίου και προσθήκη εξωτερικού πρότυπου TCN 10 ng, το οποίο εν συνεχεία τοποθετούνται σε srme φιαλίδια μαζί με 2 ml νερού, 200 mg χλωριούχου νατρίου και ακολουθεί η διαδικασία της μικροεκχύλισης αέριας φάσης με συνθήκες που περιγράφονται παρακάτω.

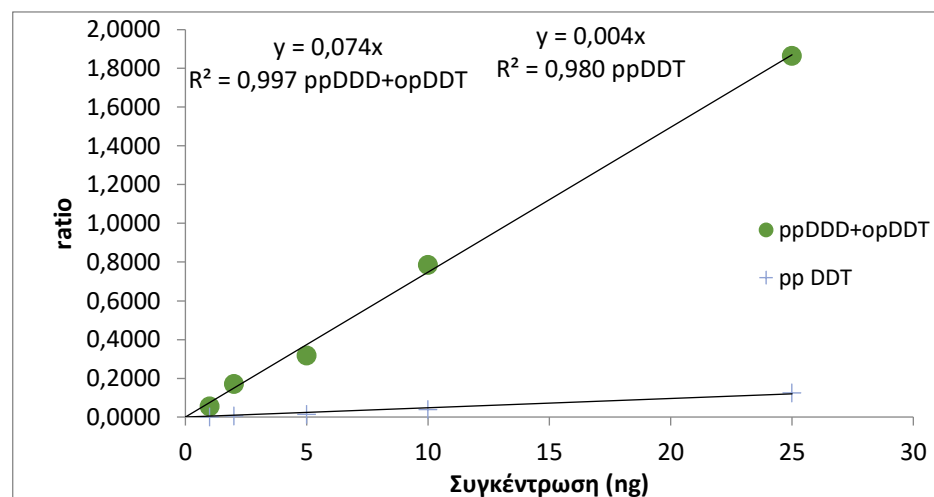
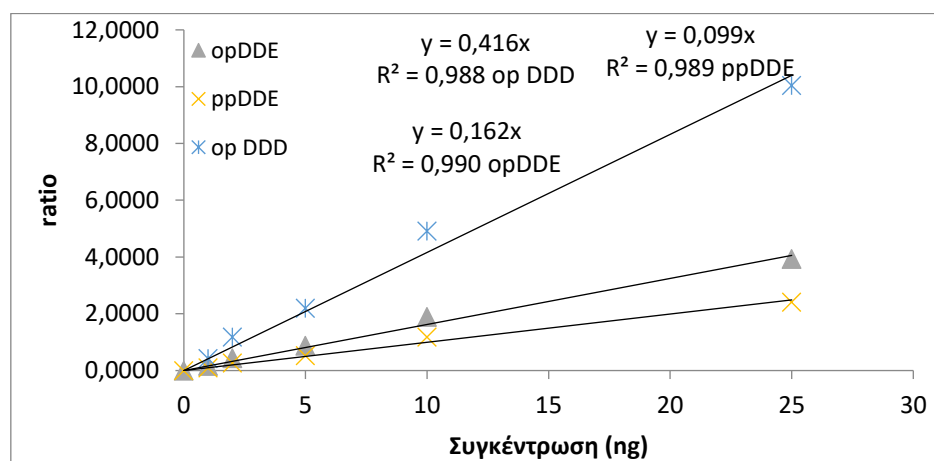
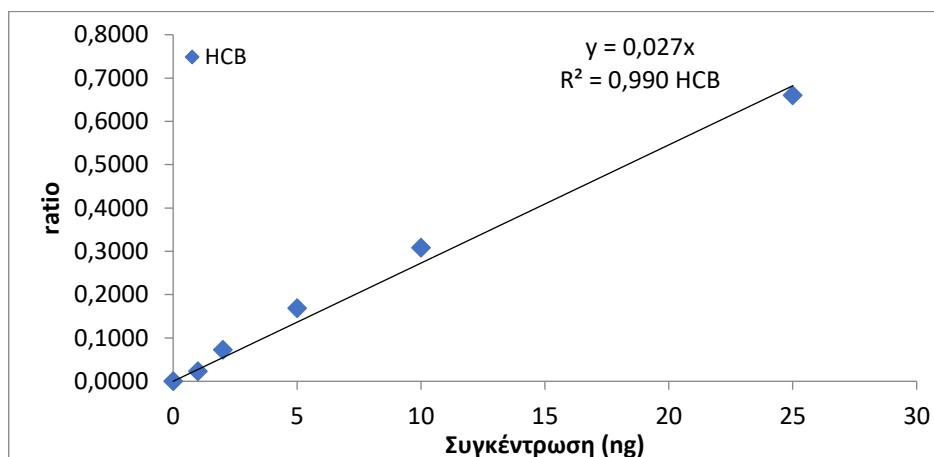
3.5.4. Οργανολογία

Για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των DDTs και HCB χρησιμοποιήθηκε σύστημα αέριας χρωματογραφίας άμεσα συζευγμένο με ένα φασματόμετρο μαζών της εταιρίας Shimadzu (μοντέλο GS-MS 2010). Ο ιονισμός των ουσιών πραγματοποιήθηκε με πρόσκρουση ηλεκτρονίων (electron impact, EI).

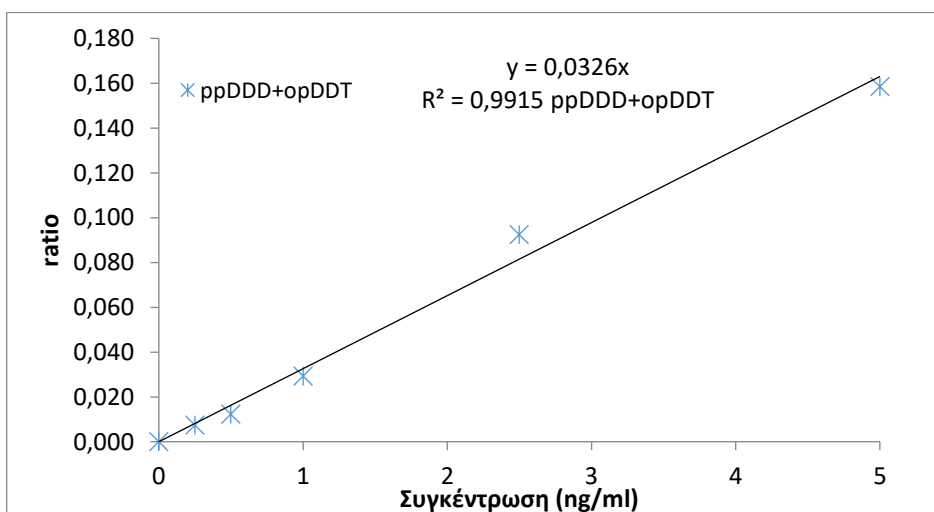
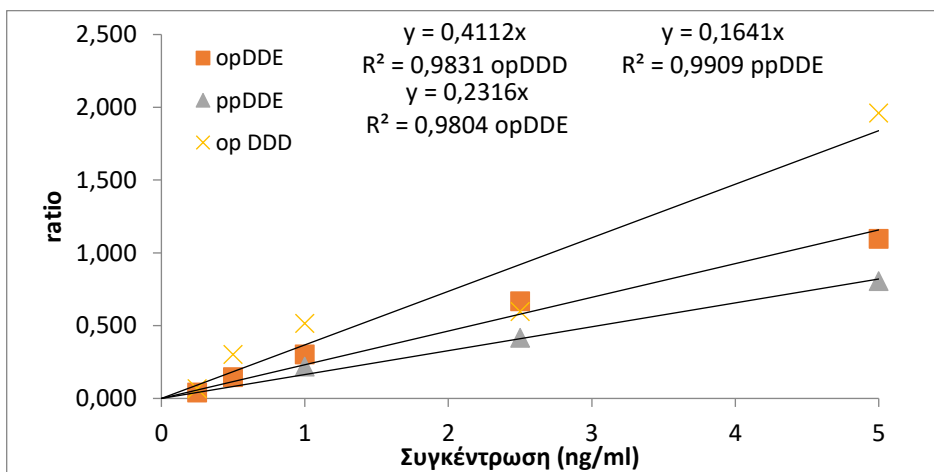
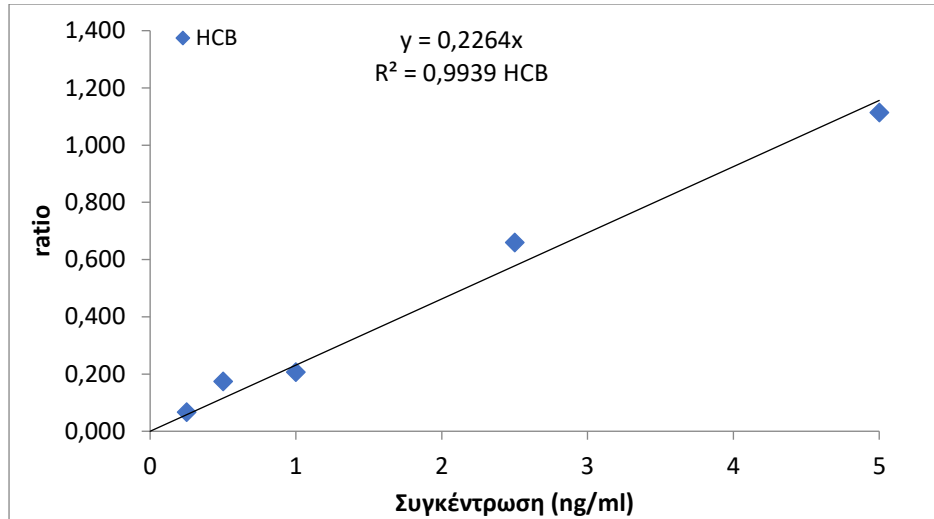
Ο διαχωρισμός έγινε σε τριχοειδή στήλη τύπου SLB5m με διάμετρο 0,25µm, 30m, 0,25 mm. Η θερμοκρασία του φούρνου ρυθμίστηκε στους 60°C για 3 λεπτά, αυξήθηκε στους 180°C (ανά 15°C) όπου παρέμεινε για 1 λεπτό, έπειτα αυξήθηκε στους 250°C (ανά 4°C) και τέλος αυξήθηκε στους 300°C (ανά 30°C) όπου παρέμεινε για 5 λεπτά. Η θερμοκρασία της πηγής ιόντων ήταν 230°C, η θερμοκρασία εισαγωγέα ήταν 300°C και η θερμοκρασία interface στους 310°C. Το φέρον αέριο ήταν ήλιο καθαρότητας 99.999%, με ροή 1ml/min.

Η προσρόφηση των ουσιών έγινε με head phase solid phase microextraction (HP-SPME) με χρήση μικροίνας (Fiber) type 65 µm, PDMS-DVP coating 23Ga με agitation στους 250 rpm στους 90°C.

Στο **Παράρτημα Δ** παρουσιάζονται χρωματογραφήματα πρότυπων διαλυμάτων, επιμολυσμένων δειγμάτων και θετικών ή αρνητικών δειγμάτων μητρικού γάλακτος ως προς τις υπό διερεύνηση ουσίες. Στα **Διαγράμματα 13** και **14** παρουσιάζονται οι καμπύλες βαθμονόμησης για τα πρότυπα και τα επιμολυσμένα δείγματα μητρικού γάλακτος, για τις ουσίες HCB, op και ppDDD, op και ppDDE και ppDDT.



Διάγραμμα 13. Καμπύλες βαθμονόμησης πρότυπων διαλυμάτων για το HCB και τα DDTs



Διάγραμμα 14. Καμπύλες βαθμονόμησης επιμολυσμένων δειγμάτων για το HCB και τα DDTs

3.5.5. Αναλυτικές παράμετροι εφαρμοζόμενης μεθοδολογίας

Έγινε αξιολόγηση της εφαρμοζόμενης μεθοδολογίας με βάση το όριο ανίχνευσης (υπολογισμένο με βάση το λόγο σήματος προς θόρυβο (S/N)), τη γραμμικότητα, την ανάκτηση και την ακρίβεια μετρήσεων, οι τιμές των οποίων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Η γραμμικότητα (r^2) των πρότυπων διαλυμάτων κυμαινόταν από 0,988 για το ppDDT opDDD έως 0,997 για το ppDDD & opDDT. Οι αντίστοιχες τιμές για τα επιμολυσμένα δείγματα ήταν από 0,9804 για τα ppDDD & opDDT και opDDE ως 0,9939 για το HCB. Τα όρια ανίχνευσης (LOD) κυμαίνονταν από 0,0005 ng/ml για το opDDD, έως 0,052 ng/ml για το ppDDD & opDDT. Τα όρια ποσοτικοποίησης (LOQ) κυμαίνονταν από 0,002 για τα opDDE και opDDD έως 0,174 ng/ml για τα ppDDD & opDDT.

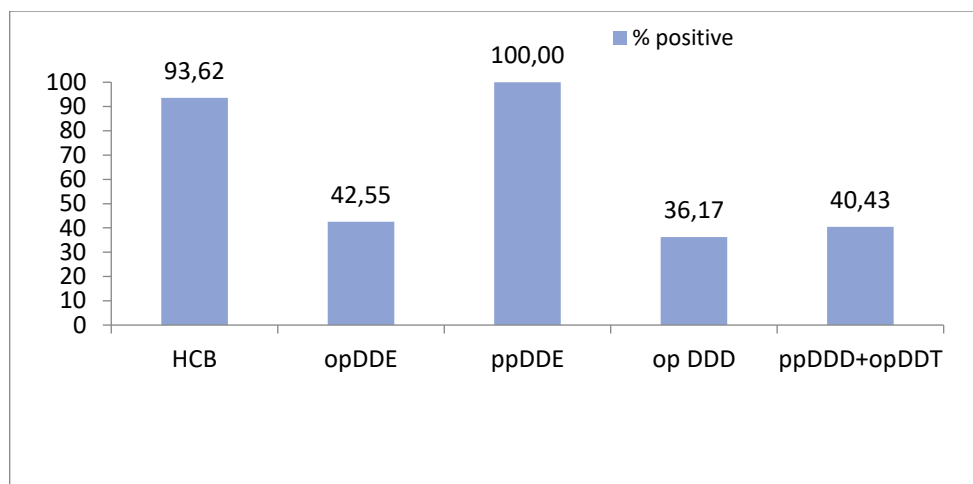
Οι τιμές % ανάκτησης ήταν από 58,2 % (ppDDD & opDDT) έως 100,5% για το opDDD, ενώ οι τιμές της ακρίβειας των μετρήσεων (% accuracy) κυμαίνονταν από 90,6% (opDDD) έως 129,9% (για το ppDDE). Εκτενώς, οι τιμές των αναλυτικών παραμέτρων ανά ουσία παρουσιάζονται στον **Πίνακα 8**.

Πίνακας 8. Αναλυτικές παράμετροι της εφαρμοζόμενης μεθοδολογίας

	r^2 (πρότυπων)	r^2 (επιμολυσμένων)	% accuracy	% recovery	LOD (ng/ml)	LOQ (ng/ml)
HCB	0,990	0,9939	105,8	97,8	0,002	0,007
opDDE	0,990	0,9804	108,0	81,9	0,001	0,002
ppDDE	0,989	0,9909	129,9	76,9	0,001	0,003
opDDD	0,988	0,9831	90,6	100,5	0,0005	0,002
ppDDD & opDDT	0,997	0,9804	106,5	58,2	0,052	0,174

3.5.6. Ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις των HCB and DDTs στα δείγματα μητρικού γάλακτος

Η σειρά θετικότητας των ουσιών στα δείγματα γάλακτος ήταν 100% για το ppDDE, ακολουθεί το HCB, το opDDE, τα ppDDD & opDDT και τέλος το opDDD με ποσοστά 93,62, 42,55, 40,43 και 36,17 % αντίστοιχα (Διάγραμμα 15).



Διάγραμμα 15. % Ποσοστό θετικών δειγμάτων γάλακτος σε HCB και DDTs

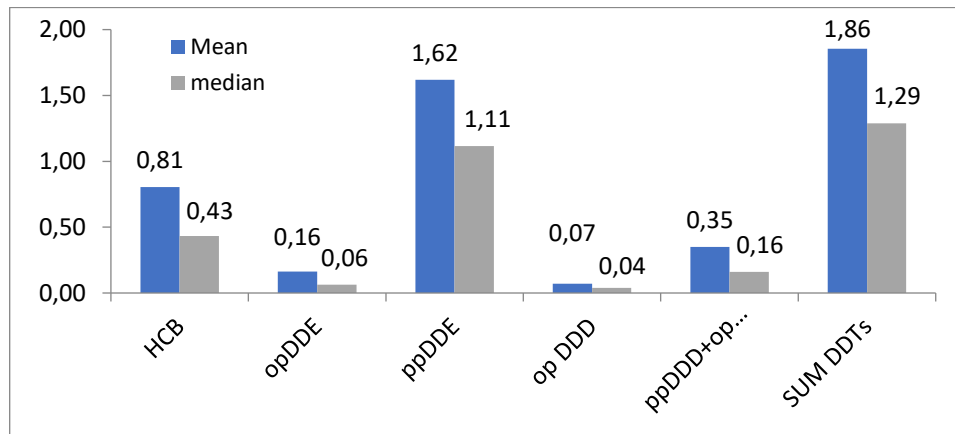
Ανάλογα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και για τις μέσες ανιχνευόμενες τιμές των συγκεντρώσεων. Οι υψηλότερες μέσες τιμές κατεγράφησαν για το ppDDE (1,62 ng/ml), τα ppDDD & opDDT (0,35 ng/ml), το opDDE (0,16 ng/ml), το opDDD (0,07 ng/ml), ενώ τέλος η μέση τιμή για το HCB ήταν 0,81 ng/ml με εύρος από 0,06 έως 4,62 ng/ml. Η ουσία ppDDT δεν ανιχνεύθηκε σε κανένα από τα δείγματα μητρικού γάλακτος. Αναλυτικά οι ανιχνευόμενες μέσες τιμές και το εύρος των συγκεντρώσεων, αλλά και το ποσοστό θετικότητας της κάθε ουσίας, παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα και στα γραφήματα (Πίνακας 9, Διάγραμμα 16).

Στο **Παράρτημα Ε** παρουσιάζονται οι επιμέρους ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις των υπό εξέταση ουσιών στα δείγματα μητρικού γάλακτος.

Πίνακας 9. Μέσες, διάμεσες, ελάχιστες και μέγιστες ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις (σε ng/ml) και τα ποσοστά θετικών δειγμάτων μητρικού γάλακτος

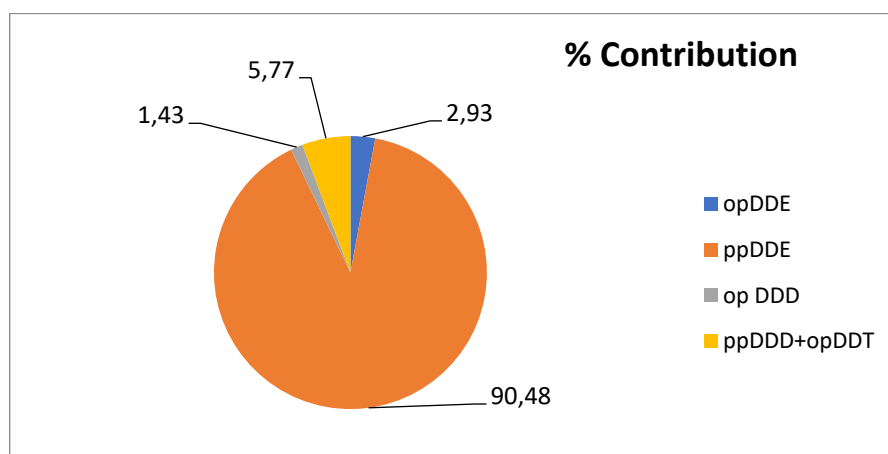
ng/ml	HCB	opDDE	ppDDE	opDDD	ppDDD&opDDT	SUM DDTs
Μέσες τιμές	0,81	0,16	1,62	0,07	0,35	1,86
±SD	0,95	0,30	1,58	0,07	0,54	1,84

Διάμεσες τιμές	0,43	0,06	1,11	0,04	0,16	1,29
Ελάχιστες	0,06	0,01	0,09	0,01	0,05	0,09
Μέγιστες	4,62	1,35	8,37	0,22	2,35	8,76
% θετικά δείγματα	93,6	42,5	100,0	36,2	40,4	-



Διάγραμμα 16. Μέσες και διάμεσες τιμές σε (ng/ml) των HCB και DDTs στα δείγματα γάλακτος

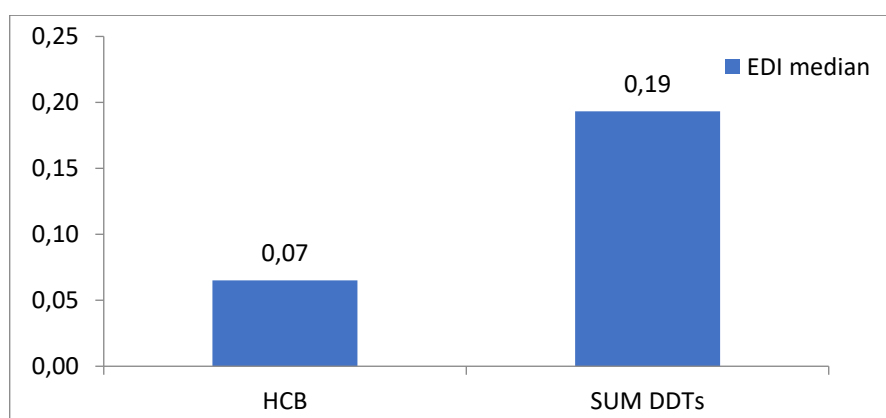
Στο παρακάτω διάγραμμα (**Διάγραμμα 17**) παρουσιάζεται η συνεισφορά της κάθε μιας από τις υπό διερεύνηση ουσίες στο συνολικό φορτίο (% Contribution) επιβάρυνσης στα δείγματα γάλακτος. Η μεγαλύτερη επιβάρυνση των δειγμάτων προέρχεται από το pp DDE (90,48%) και ακολουθούν τα ppDDD & opDDT (5,77%), το opDDE (2,93%), και τέλος το opDDD (1,43%). Η υψηλή συνεισφορά του ppDDE θα μπορούσε να εξηγηθεί από το γεγονός ότι αποτελεί τον κύριο βιομεταβολίτη του ppDDT.



Διάγραμμα 17. Η % συνεισφορά του κάθε ισομέρους των DDTs στη συνολική επιβάρυνση των δειγμάτων γάλακτος

Για την εκτίμηση της έκθεσης των νεογνών, λόγω λήψης αυτών των οργανοχλωριωμένων ρυπαντών μέσω της κατανάλωσης του μητρικού γάλακτος, προσδιορίστηκε η ημερήσια πρόσληψη (EDI) για κάθε ουσία, όπως ανάλογα έγινε για τα παραβένια, την τρικλοζάνη και τις δισφαινόλες λαμβάνοντας υπ' όψη ότι η μέση ημερήσια πρόσληψη γάλακτος για τα νεογνά ηλικίας έως 6 μηνών είναι τα 150 ml/kg.

Προέκυψε ότι η εκτιμώμενη ημερήσια πρόσληψη για το HCB έχει διάμεση τιμή 0,07 μg/kg bw/day, με τιμές να κυμαίνονται από το 0,01 έως τα 0,69 μg/kg bw/day. Για το σύνολο των DDTs, η εκτιμώμενη ημερήσια πρόσληψη έχει διάμεση τιμή τα 0,19 μg/kg bw/day, με διακύμανση από 0,01 έως 1,31 μg/kg bw/day (**Διάγραμμα 18**).

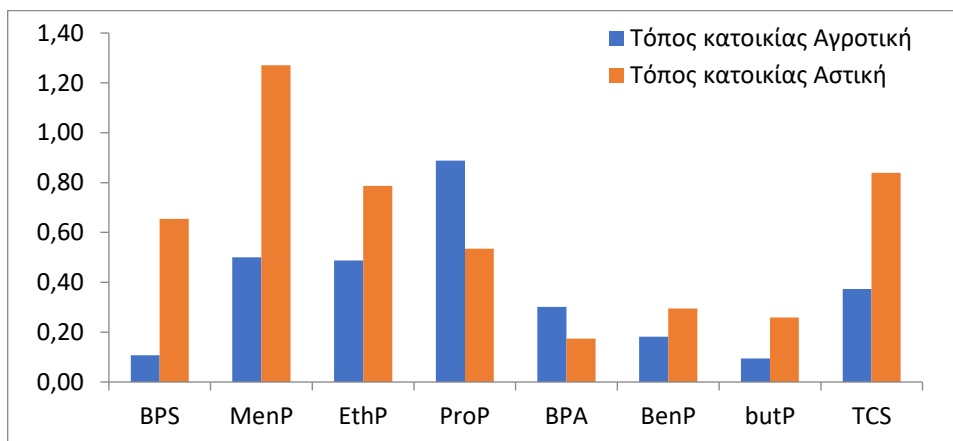


Διάγραμμα 18 . Διάμεσες τιμές της εκτιμώμενης ημερήσιας πρόσληψης (EDI) για το HCB και το σύνολο των DDTs

3.6. Συζήτηση

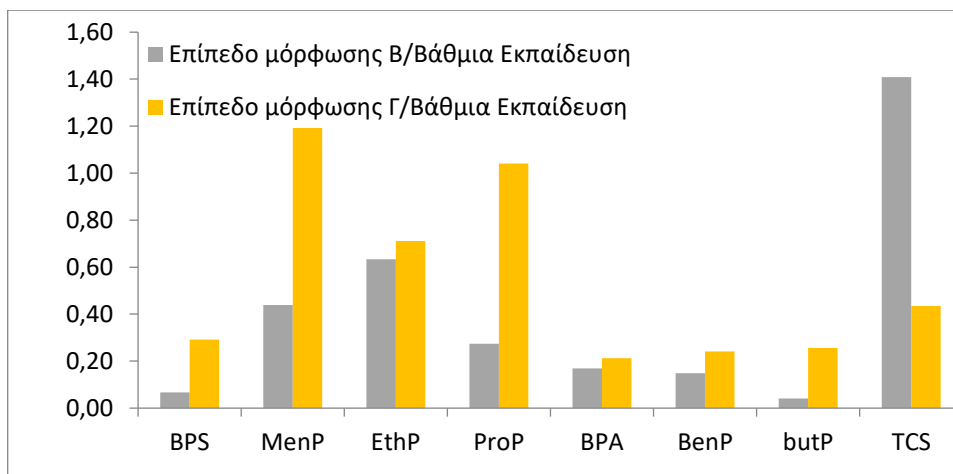
Έγινε προσπάθεια για συσχέτιση των αναλυτικών αποτελεσμάτων με στοιχεία από το ερωτηματολόγιο, όπως αυτά συλλέχθηκαν από τις συμμετέχουσες μητέρες και αφορούσαν τον τόπο κατοικίας, το επίπεδο εκπαίδευσης, τις χρόνιες ή μη ασθένειες, κ.α.

Όπως αποτυπώνεται στο παρακάτω διάγραμμα, υψηλότερες τιμές ανιχνευόμενων συγκεντρώσεων παρατηρήθηκαν για τις μητέρες με τόπο κατοικίας αστική περιοχή όσο αφορά τις ουσίες δισφαινόλη S, μεθυλ, αιθυλ, βουτυλ, βενζυλ, παραβένια, όπως επίσης και την τρικλοζάνη, ενώ υψηλότερες διάμεσες τιμές ανιχνεύονται για την δισφαινόλη A και το προπυλ παραβένιο στις γυναίκες με μόνιμη κατοικία αγροτική περιοχή (**Διάγραμμα 19**).



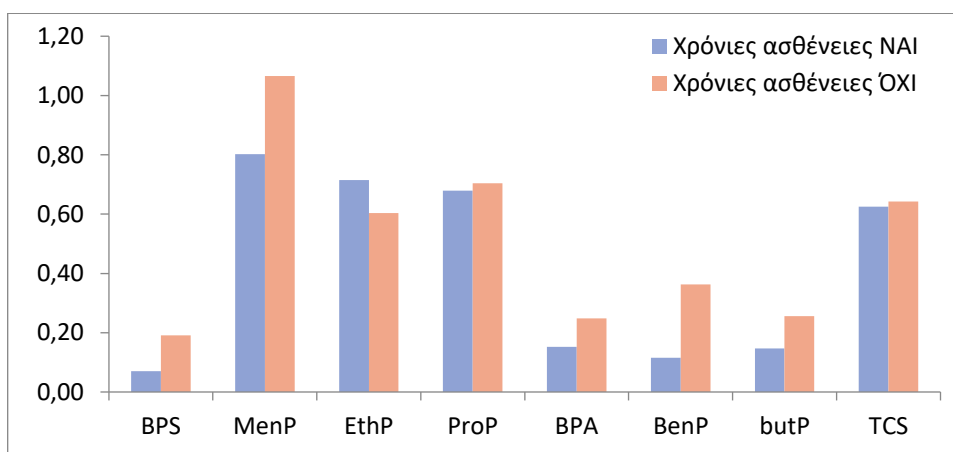
Διάγραμμα 19. Διαφοροποιήσεις των ανιχνευόμενων διάμεσων συγκεντρώσεων των υπό διερεύνηση ουσιών ανά τόπο κατοικίας των συμμετεχουσών γυναικών (στον y άξονα οι διάμεσες συγκεντρώσεις σε ng/ml)

Οι μητέρες με επίπεδο Γ/Βάθμιας εκπαίδευσης έδωσαν στο σύνολο τους υψηλότερες ανιχνευόμενες τιμές για όλες τις υπό διερεύνηση ουσίες εκτός την τρικλοζάνη, για την οποία οι υψηλότερες διάμεσες τιμές παρατηρήθηκαν στις μητέρες της Β/Βάθμιας εκπαίδευσης, όπως φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα (**Διάγραμμα 20**).



Διάγραμμα 20. Διαφοροποιήσεις των ανιχνευόμενων διάμεσων συγκεντρώσεων των υπό διερεύνηση ουσιών με βάση το επίπεδο εκπαίδευσης των συμμετεχουσών γυναικών (στον y άξονα οι διάμεσες συγκεντρώσεις σε ng/ml)

Μικτές τάσεις σχετικά με την επιβάρυνση των μητέρων, με μικρές όμως διακυμάνσεις όπως αποτυπώνεται στο παρακάτω διάγραμμα, παρατηρήθηκαν για την επιβάρυνση των μητέρων με χρόνιες ή μη ασθένειες. Ελαφρώς χαμηλότερα επίπεδα παρατηρήθηκαν για τα μεθυλ, βενζυλ και βουτυλ παραβένια, όπως επίσης για τις δισφαινόλες A και S στις μητέρες με χρόνια προβλήματα υγείας, ενώ ανάλογα ήταν τα ανιχνευόμενα επίπεδα για τις λοιπές υπό διερεύνηση ουσίες.



Διάγραμμα 21. Διαφοροποιήσεις των ανιχνευόμενων διάμεσων συγκεντρώσεων των υπό διερεύνηση ουσιών με βάση το ιατρικό ιστορικό των συμμετεχουσών γυναικών (στον y άξονα οι διάμεσες συγκεντρώσεις σε ng/ml)

Περιορισμένες είναι στη διεθνή βιβλιογραφία οι αντίστοιχες μελέτες διερεύνησης της επιβάρυνσης του μητρικού γάλακτος σε ουσίες με πιθανή ενδοκρινική δράση. Σε μελέτη του Azzouz et al., 2016 αναφέρονται επίπεδα τρικλοζάνης από 0,25 έως 2,1 ng/ml, σε ανάλυση μόλις έξι δειγμάτων γάλακτος, όταν στην παρούσα μελέτη το αντίστοιχο εύρος ήταν από 0,06 έως 46,49 ng/ml (**Πίνακας 10**).

Πίνακας 10. Βιβλιογραφικά δεδομένα και ανιχνευόμενα επίπεδα του TCS

Study	Country	No samples	Ranges
A. Azzouz et al., 2016	Spain	6	0,25 - 2,1 ng/ml
Παρούσα μελέτη	Ελλάδα	49	0,06-46,49 ng/ml

Αντίστοιχα για τα παραβένια, μελέτες κυρίως σε Ισπανία (Dualde, et al.,2019, Rodriguez-Gomez et al., 2015 και Azzouz et al., 2016) και Βραζιλία (Grecco et al.,2019) αναφέρουν επίπεδα από 0,11 έως 87,5 ng/ml για το μεθυλ παραβένιο και από 0,49 έως 18,1 ng/ml για το αιθυλ παραβένιο σε μικρό όμως αριθμό δειγμάτων γάλακτος (από 6 έως 15 δείγματα). Οι μέσες τιμές για το μεθυλ και το αιθυλ παραβένιο στη μελέτη μας ήταν 11,88 και 10,18 ng/ml αντίστοιχα, με εύρος από 0,09 έως 293,8 ng/ml για το μεθυλ και 0,16 έως 245,3 ng/ml για το αιθυλ παραβένιο (**Πίνακας 11**).

Αναφορικά με το προπυλ παραβένιο στην παρούσα μελέτη ανιχνεύεται εύρος συγκεντρώσεων από 0,09 έως 17,56 ng/ml και μέσος όρος συγκεντρώσεων 2,49 ng/ml, τη στιγμή που διαπιστώνεται στη μελέτη Dualde (Dualde, et al., 2019) ότι το αντίστοιχο εύρος ήταν από 0,13 έως 0,76 ng/ml και στη μελέτη του Rodriguez-Gomez (Rodriguez-Gomez et al., 2015) από 1,02 έως 12,6 ng/ml. Για το βουτυλ παραβένιο αναφέρονται τιμές από 0,17 έως 12,1 (**Πίνακας 11**), όταν στην παρούσα μελέτη το εύρος των συγκεντρώσεων ήταν από 0,02 έως 1,02 ng/ml με μέση τιμή τα 0,29 ng/ml.

Πίνακα 11. Βιβλιογραφικά δεδομένα και ανιχνευόμενα επίπεδα των *MetP*, *EtP*, *ProP* και *ButP*

Study	Country	No samples	Ranges (ng/ml)			
			MethP	EthP	ProP	ButP
Grecco et al., 2019	Brazil	15	7,5 - 87,5	8.7 – 18.1	8,2	ND
Dualde, et al., 2019	Spain	10	0,11 - 2,21	0,49 - 4,05	0,13 - 0,76	0,17 - 0,34
Rodriguez-Gomez et al., 2015	Spain	10	1,26 - 16,3	0,97 - 18,1	1,02 - 12,6	1,06 - 12,1
Azzouz et al., 2016	Spain	6	1,2 - 8,1	1,3 - 5,1	<LOD	<LOD - 0,36
Παρούσα μελέτη	Ελλάδα	49	0,09-293,8	0,16-245,3	0,09-17,56	0,02-1,02

Σύμφωνα με έρευνα του Jin et al. το 2020 η μέση ανιχνευόμενη συγκέντρωση σε 190 δείγματα μητρικού γάλατος για τη δισφαινόλη S ήταν τα 0,9 ng/ml, ενώ σύμφωνα με την μελέτη των Dualde et al (Dualde et al., 2019) η μέγιστη ανιχνευόμενη συγκέντρωσή της ήταν τα 0,37 ng/ml, ενώ στη δική μας μελέτη οι μέσες τιμές και τα εύρη ήταν τα 2,58 ng/ml και 0,07-19,99 ng/ml αντίστοιχα. Στη μελέτη του Dualde, et al., 2019 αναφέρονται επίπεδα δισφαινόλης F από 0,13 έως 0,32 ng/ml, ενώ στη μελέτη μας δεν καταγράφηκε θετικό δείγμα γάλακτος για τη συγκεκριμένη δισφαινόλη (**Πίνακας 12**).

Πίνακας 12. Βιβλιογραφικά δεδομένα και ανιχνευόμενα επίπεδα των δισφαινολών F και S

Study	Country	No samples	BPF (ng/ml)		BPS (ng/ml)	
			Ranges	Means/Median	Ranges	Means/Median
H. Jin et al., 2020	China	190	<LOD	-	-	0,9/-
P. Dualde, et al.,2019	Spain	10	0,13 - 0,32	-	<LOQ - 0,37	-
Παρούσα μελέτη	Ελλάδα	49	<LOD	-	0.07-19.99	2.58/0.171

Οι έρευνες για τη δισφαινόλη A είναι πολύ περισσότερες και μερικές από αυτές παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα. Σε μελέτες από χώρες της Ευρώπης (Ισπανία, Γαλλία),

Καναδά και Κίνα καταγράφονται επίπεδα δισφαινόλης Α από 0,03 έως 15 ng/ml, με διάμεσες τιμές από 0,11 έως 0,21 ng/ml. Στη μελέτη μας, η διάμεση τιμή της συγκεκριμένης δισφαινόλης ήταν τα 0,22 ng/ml (**Πίνακας 13**).

Πίνακας 13. Βιβλιογραφικά δεδομένα και ανιχνευόμενα επίπεδα της δισφαινόλης Α

BPA				
Study	Country	No samples	Ranges	Means/Median
Jin et al.,2020	China	190	<LOD - 15 ng/ml	2,5/0,21 ng/ml
Deceuninck et al.,2015	France	30	0,03 - 1,16 ng/g	-
Cao et al.,2015	Canada	278	<0,036 - 2,5 ng/g	-/0,11 ng/g
Dualde, et al.,2019	Spain	10	0,13 - 1,62 ng/ml	-
Rodriguez-Gomez et al., 2015	Spain	10	0,60 - 2,10 ng/ml	-
Azzouz et al., 2016	Spain	6	1,4 - 2,9 ng/ml	-
Παρούσα μελέτη	Ελλάδα	49	0,05-25,81 ng/ml	1,21/0,22 ng/ml

Βιβλιογραφία

Αντωνιάδου-Κουμάτου Ιωάννα και Σοφιανού Αικατερίνη, Μητρικός θηλασμός, Μητρικός Θηλασμός, Οδηγός για επαγγελματίες υγείας, Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού, Αθήνα 2015.

Καρζή, 2018. Διερεύνηση και εκτίμηση της προγεννητικής έκθεσης σε ενδοκρινικούς διαταράκτες. Master thesis, Ηράκλειο 2018.

Λεκάκου Αφροδίτη. Μητρικό γάλα, ΤΕΙ Αθήνας, Σχολή Επαγγελματιών Υγείας και Πρόνοιας, Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, 2013.

Παπακωνσταντίνου Λήδα. Σύσταση και ιδιότητες του μητρικού γάλακτος. Επηρεάζονται από τη διατροφή της μητέρας;, 2017

Adoamnei E, Mendiola J, Monino-Garcia M, Vela-Soria F, Iribarne-Duran LM, Fernandez MF, Olea N, Jorgensen N, Swan SH, Torres-Cantero A M. Urinary concentrations of parabens and reproductive parameters in young men. *Sci. Total Environ.* 621, 201–209, 2018.

Aigner EJ, Leone AD, Falconer RL. Concentrations and enantiomeric ratios of organochlorine pesticides in soils from the U.S. Corn Belt. *Environ. Sci. Technol.* 32, 1162–1168, 1998.

Aker AM, Ferguson KK, Rosario ZY, et al. The associations between prenatal exposure to triclocarban, phenols and parabens with gestational age and birth weight in northern Puerto Rico. *Environ Res.* 169, 41–51, 2019. doi:10.1016/j.envres. 2018.10.030.

Araki A, Miyashita C, Mitsui T, Goudarzi H, Mizutani F, et al.. Prenatal organochlorine pesticide exposure and the disruption of steroids and reproductive hormones in cord blood: the Hokkaido study. *Environ. Int.* 110, 1–13, 2018

Arbuckle TE, Weiss L, Fisher M, Hauser R, Dumas P, Bérubé R, Neisa A, LeBlanc A, Lang C, Ayotte P, Walker M, Feeley M, Koniecki D, Tawagi G. Maternal and infant exposure to environmental phenols as measured in multiple biological matrices. *Science of the Total Environment* 508, 575–584, 2015

Azzouz A, Rascón AJ, Ballesteros E. Simultaneous determination of parabens, alkylphenols, phenylphenols, bisphenol A and triclosan in human urine, blood and breast milk by continuous solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 119, 16–26, 2016.

Ballard O, Morrow AL. Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors *Pediatr Clin North Am.* 60(1): 49–74, 2013 doi: 10.1016/j.pcl.2012.10.002

Bansal A, Rashid C, Xin F, Li Cm et al. Sex- and dose-specific effects of maternal bisphenol A exposure on pancreatic islets of first- and second-generation adult mice offspring. *Environ. Health Perspect.* 125, 097022, 2017.

Barmpas, M., Vakonaki, E., Tzatzarakis, M., Sifakis, S., Alegakis, A., Grigoriadis, T., ... Tsatsakis, A. Organochlorine pollutants' levels in hair, amniotic fluid and serum samples of

- pregnant women in Greece. A cohort study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.103279>
- Bauer J, Gerstl J. Longitudinal analysis of macronutrients and minerals in human milk produced by mothers of preterm infants. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 30(2), 215–220, 2011.
- Baydas G, Karatas F, Gursu MF, et al. Antioxidant vitamin levels in term and preterm infants and their relation to maternal vitamin status. *Arch Med Res* 2002;33:276–80
- Belfield K, Betts H, Parkinson R, et al. A tolerability and patient acceptability pilot study of a novel antimicrobial urinary catheter for long-term use. *Neurourol Urodyn*. 38(1), 338–345, 2019. doi:10.1002/nau.23858.
- Bertoli, S., Leone, A., & Battezzati, A. Human Bisphenol A Exposure and the “Diabesity Phenotype”. *Dose-Response: A Publication of International Hormesis Society*, 13(3), 1559325815599173, 2015. <https://doi.org/10.1177/1559325815599173>
- Bjornsdotter, M. K., de Boer, J. & Ballesteros-Gomez, A. Bisphenol A and replacements in thermal paper: A review. *Chemosphere* 182, 691–706, 2017.
- Błądzka D, Gromadzińska J, Wąsowicz W. Parabens. From environmental studies to human health. *Environ. Int.* 67, 27–42, 2014.
- Boberg J, Taxvig C, Christiansen S, Hass U. Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites, *Reprod. Toxicol.* 30, 301–312, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.03.011>.
- Bjørning-Poulsen, M., Andersen, H. R., & Grandjean, P. Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environmental Health : A Global Access Science Source*, 7, 50, 2008. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-7-50>
- Bonefeld-Jørgensen EC, Long M, Hofmeister MV, Vinggaard AM. Endocrine-disrupting potential of bisphenol A, bisphenol A dimethacrylate, 4-*n*-nonylphenol, and 4-*n*-octylphenol *in vitro*: new data and a brief review. *Environ Health Perspect* 115(suppl 1), 69–76, 2007 doi:10.1289/ehp.9368.
- Burns K, Villeneuve JP. Chlorinated hydrocarbons in the open Mediterranean ecosystem and implications for mass balance calculation. *Mar. Chem.* 20, 337e359, 1987.
- Campoy C, Jimenez M, Olea-Serano MF, Moreno-Frias M, Canabete F, Olea N, et al. Analysis of organochlorine pesticides in human milk: preliminary results. *Early Hum. Dev.* 65, 189–190, 2001.
- Cai S, Zhu J, Sun L, et al. Association between urinary triclosan with bone mass density and osteoporosis in the US adult women, 2005–2010. *J Clin Endocrinol Metabol.* 104(10), 4531–4538, 2019. doi:10.1210/jc.2019-00576.
- Cao XL, Popovic S, Arbuckle TE and Fraser WD. Determination of free and total bisphenol A in human milk samples from Canadian women using a sensitive and selective GC-MS method. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 32, 1, 120–125, 2015.

Centers of Disease Control and Prevention. Fetal alcohol spectrum disorders (FASDs). Centers of Disease Control and Prevention, March 27, 2018. Available at www.cdc.gov/ncbddd/fasd/alcohol-use.html (accessed September 12, 2018).

Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction 2000. NTP-CERHR expert panel report on di(2-ethylhexyl)phthalate. NTP-CERHR-DEHP-00. U.S. Department of Health and Human Services, National Toxicology Program, Alexandria, VA

Chang YC, Chen CH, Lin MC. The macronutrients in human milk changes after storage in various containers. *Pediatr Neonatol*, 53:205–209, 2012.

Chen Y, Fang JZ, Ren L, Fan RF, Zhang JQ, Liu GH, Zhou L, Chen DY, Yu YY, Lu SY. Urinary bisphenol analogues and triclosan in children from south China and implications for human exposure. *Environ. Pollut.* 238, 299-305, 2018.

Cosmetic Ingredient Review Expert Panel. Final amended report on the safety assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, and Benzylparaben as used in cosmetic products. *International Journal of Toxicology*. 27 Suppl 4:1-82, 2008.

Cochi SL, Fleming DW, Hightower AW, et al. Primary invasive Haemophilus influenzae type b disease: a population-based assessment of risk factors. *J Pediatr*. 108:887–896, 1986.

Cwiek-Ludwicka K. Bisphenol A (BPA) in food contact materials—New scientific opinion from EFSA regarding public health risk. *Rocz Panstw Zakl Hig* 66, 299–307, 2015.

Da C, Liu G, Yuan Z. Analysis of HCHs and DDTs in a sediment core from the Old Yellow River Estuary, China. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 100, 171–177, 2014.

Dann AB, Hontela A. Triclosan: environmental exposure, toxicity and mechanisms of action. *J Appl Toxicol* 31(4), 285–311, 2011

Danzl E, Sei K, Soda S, Ike M, Fujita M. Biodegradation of bisphenol A, bisphenol F and bisphenol S in seawater. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 6, 1472–1484, 2009.

Darbre PD, Aljarrah A, Miller WR, Coldham NG, Sauer MJ, Pope GS. Concentrations of parabens in human breast tumours. *J. Appl. Toxicol.* 24 (1), 5-13, 2004.

Darbre PD, Harvey PW. Paraben esters: review of recent studies of endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure, and discussion of potential human health risks, *J. Appl. Toxicol.* 28, 561–578, 2008, <https://doi.org/10.1002/jat.1358>.

Dawodu A, Zalla L, Woo JG, Herbers PM, Davidson BS, Heubi JE, Morrow AL. Heightened attention to supplementation is needed to improve the vitamin D status of breastfeeding mothers and infants when sunshine exposure is restricted. *10(3):383-97*, 2014. doi: 10.1111/j.1740-8709.2012.00422

Dayan AD. Risk assessment of triclosan [Irgasan] in human breast milk. *Food and Chemical Toxicology* 45 125–129, 2007

Deceuninck Y, Bichon E, Marchand P, Boquien CY, Legrand A, Boscher C, Antignac JP, Bizec BL. Determination of bisphenol A and related substitutes/analogues in human breast

milk using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, 407(9), 2485-97, 2015, doi: 10.1007/s00216-015-8469-9.

Dewey KG, Lo nnerdal B. Infant self-regulation of breast milk intake. *Acta Paediatr Scand* 75:893–898, 1986.

Dodge LE, Kelley KE, Williams PL, Michelle A. Williams, Hern andez-Díaz S, Missmer AS, Hauser R. Medications as a source of paraben exposure. *Reproductive Toxicology*. 2015; 52(617):93-100.

Dodson RE, Nishioka M, Standley LJ, Perovich LJ, Brody JG, Rudel RA. Endocrine disruptors and asthma-associated chemicals in consumer products. *Environ Health Perspect* 120, 935–943, 2012

Dualde P, Pardo O, Corpas-Burgos F, Kuligowski J, Gormaz M, Vento M, Pastor A, Yus  V. Biomonitoring of bisphenols A, F, S in human milk and probabilistic risk assessment for breastfed infants. *Science of the Total Environment* 668, 797–805, 2019.

Dualde, P., Pardo, O., Corpas-Burgos, F., Kukulowski, J., Gormaz, M., Vento, M., Pastor, A., Yus , V. Biomonitoring of parabens in human milk and estimated daily intake for breastfed infants. *Chemosphere* 240, 124829, 2020.

Duarte-Restrepo E, Noguera-Oviedo K, Butryn D, Wallace JS, Aga DS, Jaramillo-Colorado BE. Spatial distribution of pesticides, organochlorine compounds, PBDEs, and metals in surface marine sediments from Cartagena Bay, Colombia. *Environ Sci Pollut Res Int*. 28(12):14632-14653, 2021. doi: 10.1007/s11356-020-11504-6. Epub 2020 Nov 20. PMID: 33216302.

EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF). Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs: Opinion on BPA. EFSA 2015, <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.3978>

Eglash A, Simon L; Academy of Breastfeeding Medicine. ABM Clinical Protocol #8: Human milk storage information for home use for full term infants, revised 2017. *Breastfeed Med* 12:390–395, 2017.

Esteban M, Castano A. Non-invasive matrices in human biomonitoring: a review, *Environ. Int.* 35, 438–449, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.09.003>.

Fan JJ, Wang S, Tang JP, et al. Bioaccumulation of endocrine disrupting compounds in fish with different feeding habits along the largest subtropical river, China. *Environ Pollut.* 247, 999–1008, 2019. doi:10.1016/j.envpol.2019.01.113.

Fang J, Liu H, Zhao H, Xu S, Cai Z. Concentrations of organochlorine pesticides in cord serum of newborns in Wuhan, China. *Sci Total Environ.* 2018 Sep 15;636:761-766. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.337

Feng Y, Zhang P, Zhang Z, Shi J, Jiao Z, Shao B. Endocrine disrupting effects of triclosan on the placenta in pregnant rats. *PLoS One* 11 (5), e154758, 2016.

- Fic A, Zegura B, Sollner Dolenc M, Filipic M Peterlin Masic L. Mutagenicity and DNA damage of bisphenol A and its structural analogues in HepG2 cells. *Arh Hig Rada Toksikol.* 64, 189–200, 2013.
- Fiege H, Voges HW, Hamamoto T, Umemura S, Iwata T, Miki H, et al. Phenol derivatives. In: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Weinheim, Germany:Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 643–647, 2000
- Fotouhi M, Seidi S, Shanehsaz M, Naseri MT. Magnetically assisted matrix solidphase dispersion for extraction of parabens from breast milks, *J. Chromatogr. A* 1504, 17–26, 2017, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.05.009>.
- Gabrielli O, Zampini L, Galeazzi T, Padella L, Santoro L, Peila C, Giuliani F, Bertino E, Fabris C, Coppa GV. Preterm milk oligosaccharides during the first month of lactation. *Pediatrics.* 128(6):e1520–1531, 2011.
- García-Lara NR, Escuder-Vieco D, García-Algar O, et al. Effect of freezing time on macronutrients and energy content of breastmilk. *Breastfeed Med* 7:295–301, 2012.
- Gartner LM, Morton J, Lawrence RA, Naylor AJ, O'Hare D, Schanler RJ, Eidelman AI; American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics.* 115(2), 496-506, 2005. doi: 10.1542/peds.2004-2491. PMID: 15687461.
- Georgeson GD, Szony BJ, Streitman K, et al. Antioxidant enzyme activities are decreased in preterm infants and in neonates born via caesarean section. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 103:136–9, 2002.
- Goldinger DM, AL Demierrea, O Zollerb, et al. Endocrine activity of alternatives to BPA found in thermal paper in Switzerland. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 71, 453–462, 2015.
- González, N., Marquès, M., Cunha, S. C., Fernandes, J. O., Domingo, J. L., & Nadal, M. Biomonitoring of co-exposure to bisphenols by consumers of canned foodstuffs. *Environment International*, 140, 105760, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105760>
- Goshal B, Lahiri S, Kar K, et al. Changes in biochemical contents of expressed breast milk on refrigerator storage. *Indian Pediatr* 49:836–837, 2012
- Giulivo M, Lopez de Alda M, Capri E, Barceló D. Human exposure to endocrine disrupting compounds: Their role in reproductive systems, metabolic syndrome and breast cancer. A review. *Environmental Research.* 151, 251-264, 2016.
- Guo J, Wu C, Zhang J, et al. Early life triclosan exposure and neurodevelopment of children at 3 years in a prospective birth cohort. *Int J Hyg Environ Health.* 224, 113427, 2020. doi:10.1016/j.ijheh.2019.113427.
- Grecco CF, Souza ID, Acquaro VR Junior and Queiroz MEC. Determination of Parabens in Breast Milk Samples by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction (DLLME) and Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *J.Braz. Chem. Soc.*, 00, 00, 1-12, 2018

- Greer FR. Do breastfed infants need supplemental vitamins? *Pediatric clinics of North America*. 48(2), 415–423, 2001.
- Hanna N, Ahmed K, Ahwar M, Petrova A, Hiatt M, Hegyi T. Effect of storage on breast milk antioxidant activity. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 89:F518-F520, 2004. doi:10.1136/adc.2004.049247
- Haman C, Dauchy X, Rosin C, Munoz J. Occurrence, fate and behavior of parabens in aquatic environments: a review. *Water Res.* 68, 1-11, 2015.
- Hayden CGJ, Cross SE, Anderson C, Saunders v NA, Robertsc MS. Sunscreen penetration of human skin and related keratinocyte toxicity after topical application, *Skin Pharmacol. Phys.* 18, 170–174, 2005
- Hines E, Calafat A, Silva M, Mendola P, Fenton S. Concentrations of phthalate metabolites in milk, urine, saliva, and serum of lactating North Carolina women. *Environ. Health Perspect.* 117 (1), 86e92, 2009.
- Hines EP, Mendola P, von Ehrenstein OS, Ye X, Calafat AM, Fenton. Concentrations of environmental phenols and parabens in milk, urine and serum of lactating North Carolina women, *Reprod. Toxicol.* 54, 120–128, 2015 <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2014.11.006>.
- Honda M, Robinson M, Kannan K. Parabens in human urine from several Asian countries, Greece, and the United States. *Chemosphere* 201, 13–19, 2018.
- Hopkinson J, Schanler RJ, Fraley JK, et al. Milk production by mothers of premature infants: Influence of cigarette smoking. *Pediatrics* 90:934–938, 1992.
- Howie PW, Forsyth JS, Ogston SA, Clark A, Florey CD. Protective effect of breast feeding against infection. *BMJ.* 300:11–16, 1990.
- Hussein S E, Muret P, Berard M, Makki S, Humbert P, Assessment of principal parabens used in cosmetics after their passage through human epidermis-dermis layers (ex-vivo study), *Exp. Dermatol.* 16 830–836, 2007.
- Istre GR, Conner JS, Broome CV, Hightower A, Hopkins RS. Risk factors for primary invasive *Haemophilus influenzae* disease: increased risk from day care attendance and school-aged household members. *J Pediatr.* 106:190–195, 1985.
- Jensen, RG. *Handbook of Milk Composition*. Academic Press, Inc.; San Diego, CA: 1995.
- Jin J, Wu P, Zhang X, et al. Understanding the interaction of estrogenic ligands with estrogen receptors: a survey of the functional and binding kinetic studies. *J Environ Sci Health, Part C.* 38(2), 142–127, 2020. doi:10.1080/26896583.2020. 1761204
- Juncker JC. In 528/2012. In: Juncker, Jean-Claude (Ed.), *Commission Impementing Decision Not Approving Triclosan as an Existing Active Substance for Use in Biocidal Products for Product-type 1*. European Union, Brussels, 2016.

Kaingade P, Somasundaram I, Nikam A, et al. Breast milk cell components and its beneficial effects on neonates: Need for breast milk cell banking. *J Pediatr Neonatal In Divid Med* 6:e060115, 2017.

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

Kim JH, Kim D, Moon SM, Yang EJ. Associations of lifestyle factors with phthalate metabolites, bisphenol A, parabens, and triclosan concentrations in breast milk of Korean mothers. *Chemosphere*. 249, 126149, 2020. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126149. Epub 2020 Feb 7. PMID: 32062213.

Kolatorova L, Vitku J, Hampl R, Adamcova K, Skodova T, Simkova M, Parizek A, Starka L, Duskova M. Exposure to bisphenols and parabens during pregnancy and relations to steroid changes. *Environ. Res.* 163, 115–122, 2018.

Koletzko B, et al. Infant feeding and later obesity risk. *Adv Exp Med Biol*, 646:15-29, 2009. doi: 10.1007/978-1-4020-9173-5_2.

Kumar V, Chakraborty A, Kural MR, Roy P. Alteration of testicular steroidogenesis and histopathology of reproductive system in male rats treated with triclosan. *Reprod. Toxicol.* 27 (2), 177-185, 2009.

Kux L. Federal register, 81. 126, 2016. <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2016-06-30/pdf/2016-15410.pdf>.

Lankester J, Patel C, Cullen MR, Ley C, Parsonnet J. Urinary triclosan is associated with elevated body mass index in NHANES. *PLoS One* 8 (11) e80057, 2013.

Larsson K, Bjorklund K, Palm B, Wennberg M, Kaj L, Lindh C, Jonsson B, Berglund M. Exposure determinants of phthalates, parabens, bisphenol A and triclosan in Swedish mothers and their children. *Environ. Int.* 73, 323-333, 2014.

Lee J, Choi G, Park J, Moon H, Choi G, Lee J, Suh E, Kim H, Eun S, Kim G, Cho G, Kim S, Kim S, Kim S, Kim S, Eom S, Choi S, Kim Y, Kim S. Bisphenol A distribution in serum, urine, placenta, breast milk, and umbilical cord serum in a birth panel of mother-neonate pairs. *Sci. Total Environ.* 626 (1), 1494-1501, 2018.

Lee, B. E., Park, H., Hong, Y. C., Ha, M., Kim, Y., Chang, N., ... Ha, E. H. (2014). Prenatal bisphenol A and birth outcomes: MOCEH (Mothers and Children's Environmental Health) study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 217(2–3), 328–334. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2013.07.005>

Lee SA., Dai Q, Zheng W, Gao YT, Blair A, Tessari JD, Ji BT, Shu XO. Association of serum concentration of organochlorine pesticides with dietary intake and other lifestyle factors among urban Chinese women. *Environ. Int.* 33, 157–163, 2007.

Legler, J., Fletcher, T., Govarts, E., Porta, M., Blumberg, B., Heindel, J.J., & Trasande, L. Obesity, Diabetes, and Associated Costs of Exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals in

the European Union. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(4), 1278-1288, 2015.

Ley C, Sundaram V, Sanchez ML, et al. Triclosan and triclocarban exposure, infectious disease symptoms and antibiotic prescription in infants-A community-based randomized intervention. *PLoS One*. 13(6), e0199298, 2018.

Li D, Tolleson WH, Yu D, et al. Regulation of cytochrome P450 expression by microRNAs and long noncoding RNAs: Epigenetic mechanisms in environmental toxicology and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.*37(3), 180–214, 2019. doi:10.1080/10590501.2019.1639481.

Li J, Li F, Liu Q. Sources, concentrations and risk factors of organochlorine pesticides in soil, water and sediment in the Yellow River estuary. *Mar. Pollut. Bull.* 100, 516–522. 2015.

Li M, He Y, Sun J, et al. Chronic exposure to an environmentally relevant triclosan concentration induces persistent triclosan resistance but reversible antibiotic tolerance in *Escherichia coli*. *Environ Sci Technol*. 53(6), 3277–3286, 2019.

Lin T, Li J, Xu Y, Liu X, Luo C, Cheng H, Chen Y, Zhang G. Organochlorine pesticides in seawater and the surrounding atmosphere of the marginal seas of China: spatial distribution, sources and air–water exchange. *Sci. Total Environ*. 435–436, 244–252, 2012.

Lin T, Hu Z, Zhang G, Li X, Xu W, Tang J, Li J. Levels and mass burden of DDTs in sediments from fishing harbors: the importance of DDT-containing antifouling paint to the coastal environment of China. *Environ. Sci. Technol*. 43, 8033e8038, 2009

Lin S, Ku H, Su P, Chen J, Huang P, Angerer J, Wang SL. Phthalate exposure in pregnant women and their children in central Taiwan. *Chemosphere*. 82 (7), 947-955, 2011.

Liu M, Jia S, Dong T, Han Y, Xue J, RianiWanjaya E, Fang M. The occurrence of bisphenol plasticizers in paired dust and urine samples and its association with oxidative stress *Chemosphere* 216, 472-478, 2019a.

Liu H, Li J, Xia W, et al. Blood pressure changes during pregnancy in relation to urinary paraben, triclosan and benzophenone concentrations: a repeated measures study. *Environ Int*. 122, 185–192, 2019b. doi:10.1016/j.envint.2018.11.003.

Liao C, Chen L, Kannan K. Occurrence of parabens in foodstuffs from China and its implications for human dietary exposure. *Environ. Int*. 57/58, 68-74, 2013a

Liao C, Kannan K. A survey of alkylphenols, bisphenols, and triclosan in personal care products from China and the United States. *Arch Environ Contam Toxicol* 67:50–59, 2014.

Liao C, Kannan K. Concentrations and profiles of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from the United States and their implications for human exposure. *J Agric Food Chem* 61:4655–4662, 2013

Liao C, Liu F, Guo Y, Moon HB, Nakata H, Wu Q, et al.. Occurrence of eight bisphenol analogues in indoor dust from the United States and several Asian countries: implications for human exposure. *Environ Sci Technol* 46:9138–9145, 2012b.

- Liao C, Liu F, Kannan K. Bisphenol S, a new bisphenol analogue, in paper products and currency bills and its association with bisphenol A residues. *Environ Sci Technol* 46:6515–6522 2012c.
- Lonnerdal B. Human milk proteins: key components for the biological activity of human milk. *Advances in experimental medicine and biology*. 554:11–25, 2004.
- Lonnerdal B, Erdmann P, Thakkar SK, Sauser J, Destailats F. Longitudinal Evolution of true protein, amino acids and bioactive proteins in breast milk: a developmental perspective. *J Nutr Biochem*. 41:1–11, 2017. doi: 10.1016/j.jnutbio.2016.06.001
- Lotti N, Colonna M, Fiorini M, Finelli L, Berti C. Poly(butylene terephthalate) modified with ethoxylated bisphenol S with increased glass transition temperature and improved thermal stability. *Polymer* 52, 904–911, 2011.
- Lu SY, Yu YL, Ren L, Zhang XL, Liu GH, Yu YX. Estimation of intake and uptake of bisphenols and triclosan from personal care products by dermal contact. *Sci. Total Environ*. 621, 1389-1396, 2018.
- Lu S, Wang N, Ma S, Hu X, Kang L, Yu Y. Parabens and triclosan in shellfish from Shenzhen coastal waters: Bioindication of pollution and human health risks. *Environmental Pollution* 246, 257e263, 2019.
- Lu J, Jin M, Nguyen SH, et al. Non-antibiotic antimicrobial triclosan induces multiple antibiotic resistance through genetic mutation. *Environ Int*. 118, 257–265, 2018. doi:10.1016/j.envint.2018.06.004.
- Luccio-Camelo DC, Prins GS. Disruption of androgen receptor signaling in males by environmental chemicals. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 127, 74–82, 2011.
- Machtinger R, Berman T, Adir M, et al. Urinary concentrations of phthalate metabolites, bisphenols and personal care product chemical biomarkers in pregnant women in Israel. *Environ Int*. 116, 319–325, 2018. doi:10.1016/j.envint.2018.04.022
- Majeed A, Sagar F, Latif A, et al. Does antimicrobial coating and impregnation of urinary catheters prevent catheter-associated urinary tract infection? A review of Clinical and preclinical studies. *Expert Rev Med Devices*. 16(9), 809–820, 2019. doi:10.1080/17434440.2019.1661774.
- Malaisé Y, Menard S, Cartier C, Gaultier E, et al.. Gut dysbiosis and impairment of immune system homeostasis in perinatally-exposed mice to Bisphenol A precede obese phenotype development. *Sci. Rep.* 7, 14472, 2017Mcgraw JE, Waller D P. Fish ingestion and congener specific polychlorinated biphenyl and p,p'-dichlorodiphenyldichloroethylene serum concentrations in a great lakes cohort of pregnant African American women. *Environ. Int*. 35, 557–565, 2009.
- Marild S, Hansson S, Jodal U, Oden A, Svedberg K. Protective effect of breastfeeding against urinary tract infection. *Acta Paediatr*. 93: 164–168, 2004.
- Molina-Molina JM, Amaya E, Grimaldi M, Sáenz JM, Real M, Fernández MF, Balaguer P, Olea N. In vitro study on the agonistic and antagonistic activities of bisphenol-S and other

- bisphenol-A congeners and derivatives via nuclear receptors. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 272, 127–136, 2013.
- Moss T, Howes D, Williams FM. Percutaneous penetration and dermal metabolism of triclosan (2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether). *Food and Chemical Toxicology.* 38(4), 361-370, 2000.
- Murugesan K, Chang YY, Kim YM, et al. Enhanced transformation of triclosan by laccase in the presence of redox mediators. *Water Res.* 44(1), 298–308, 2010. doi:10.1016/j.watres.2009.09.058.
- Mustieles V, Fernández MF. Bisphenol A shapes children ' s brain and behavior : towards an integrated neurotoxicity assessment including human data, 1–8, 2020.
- Nommsen LA, Lovelady CA, Heinig MJ, et al. Determinants of energy, protein, lipid and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: The DARLING Study. *Am J Clin Nutr* 53:457–465, 1991.
- Nowak K, Ratajczak-Wrona W, Gorska M, Jablonska E. Parabens and their effects on the endocrine system. *Mol. Cell. Endocrinol.* 474, 238–251, 2018.
- Núñez L, Tadeo JL, García-Valcárcel AI, Turiel E. Determination of parabens in environmental solid samples by ultrasonic-assisted extraction and liquid chromatography with triple quadrupole mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1214 (1/2), 178-182, 2008.
- Oddy WH, Sly PD, de Klerk NH, et al. Breast feeding and respiratory morbidity in infancy: a birth cohort study. *Arch Dis Child.* 88, 224–228, 2003
- Oftedal OT. The evolution of milk secretion and its ancient origins. *Animal : an international journal of animal bioscience.* 6(3), 355–368, 2012
- Oishi S. Effects of butylparaben on the male reproductive system in rats. *Toxicol. Ind. Health* 17 (1), 31e39, 2001.
- Oishi S. Effects of propyl paraben on the male reproductive system. *Food Chem. Toxicol.* 40 (12), 1807e1813, 2002.
- Ouyang F, Tang N, Zhang HJ, et al. Maternal urinary triclosan level, gestational diabetes mellitus and birth weight in Chinese women. *Sci Total Environ.* 626, 451–457, 2018. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.01.102.
- Peng X, Yu Y, Tang C, Tan J, Huang Q, Wang Z. Occurrence of steroid estrogens, endocrine- disrupting phenols, and acid pharmaceutical residues in urban riverine water of the Pearl River Delta, South China. *Science of the Total Environment.* 397:158–66, 2008.
- Peng S, Kong D, Li L, Zou C, Chen F, Li M, Cao T, Yu C, Song J, Jia W, Peng P. Distribution and sources of DDT and its metabolites in porewater and sediment from a typical tropical bay in the South China Sea. *Environ Pollut.* 2020 Dec;267:115492. doi: 10.1016/j.envpol.2020.115492
- Pham Q. Factors Affecting the Composition of Expressed Fresh Human Milk. *Breastfeeding Medicine,* 15, 9, 2020, <https://doi.org/10.1089/bfm.2020.0195>

- Picciano M.F., Nutrient composition of human milk, *Pediatr. Clin. North Am.* 48 53–67, 2001.
- Qiu XH, Zhu T, Yao B, Hu J, Hu S. Contribution of dicofol to the current DDT pollution in China. *Environ. Sci. Technol.* 39, 4385–4390, 2005.
- Ramaswamy BR, Kim JW, Isobe T, Chang KH, Amano A, Miller TW, Siringan FP, Tanabe S. Determination of preservative and antimicrobial compounds in fish from Manila Bay, Philippines using ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, and assessment of human dietary exposure. *J. Hazard Mater.* 192 (3), 1739-1745, 2011.
- Rami´rez-Santana C, Pe´rez-Cano FJ, Audi´ C, et al. Effects of cooling and freezing storage on the stability of bioactive factors in human colostrum. *J Dairy Sci* 95:2319–2325, 2012.
- Richter CA, Taylor JA, Ruhlen RL, Welshons WV, vom Saal FS. Estradiol and bisphenol A stimulate late androgen receptor and estrogen receptor gene expression in fetal mouse prostate mesenchyme cells. *Environ Health Perspect* 115, 902–908, 2007.
- Rochester JR. Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reprod Toxicol* 42, 132–155, 2013.
- Rodricks JV, Swenberg JA, Borzelleca JF, Maronpot RR, Shipp AM Triclosan: a critical review of the experimental data and development of margins of safety for consumer products. *Crit Rev Toxicol* 40(5), 422–484, 2010
- Rodríguez-Gómez R, Dorival-García N, Zafra-Gómez A, Camino-Sánchez FJ, Ballesteros O, Navalón A. New method for the determination of parabens and bisphenol A in human milk samples using ultrasound-assisted extraction and clean-up with dispersive sorbents prior to UHPLC–MS/MS analysis. *Journal of Chromatography B*, 992, 47–55, 2015.
- Rodríguez-Gómez R, Jiménez-Díaz I, Zafra-Gómez A, Ballesteros O, Navalón A. A multiresidue method for the determination of selected endocrine disrupting chemicals in human breast milk based on a simple extraction procedure, *Talanta*. 130, 561–570, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.07.047>.
- Rossmassler K, Kim S, Broeckling CD, et al. Impact of primary carbon sources on microbiome shaping and biotransformation of pharmaceuticals and personal care products. *Biodegradation*. 30(2–3), 127–145, 2019. doi:10.1007/s10532-019-09871-0.
- Ruan T, Liang D, Song S, Song M, Wang H, Jiang G. Evaluation of the in vitro estrogenicity of emerging bisphenol analogs and their respective estrogenic contributions in municipal sewage sludge in China. *Chemosphere* 124, 150–155, 2015.
- Ryu JE. Caffeine in human milk and in serum of breast-fed infants. *Dev Pharmacol Ther* 8:329–337, 1985.
- Saarela T, Kokkonen J, Koivisto M. Macronutrient and energy contents of human milk fractions during the first six months of lactation. *Acta Paediatr.* 94(9):1176–1181, 2005.
- Saarinen UM. Prolonged breast feeding as prophylaxis for recurrent otitis media. *Acta Paediatr Scand.* 71:567–571, 1982.

- Sakhi, A. K., Lillegaard, I. T. L., Voorspoels, S., Carlsen, M. H., Løken, E. B., Brantsæter, A. L., ... Thomsen, C. (). Concentrations of phthalates and bisphenol A in Norwegian foods and beverages and estimated dietary exposure in adults. *Environment International*, 73, 259–69, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.08.005>
- Sandborgh-Englund G, Adolfsson-Erici M, Odham G, et al. Pharmacokinetics of triclosan following oral ingestion in humans. *J Toxicol Environ Health Part A*. 69(20), 1861–1873, 2006. doi:10.1080/15287390600631706.
- Sanidad KZ, Xiao H, Zhang G. Triclosan, a common antimicrobial ingredient, on gut microbiota and gut health. *Gut Microbes*. 10(3), 1–4, 2018. doi:10.1080/19490976.2018.1546521.
- Savino F, Costamagna M, Prino A, Oggero R, Silvestro L. Leptin levels in breast-fed and formula-fed infants. *Acta Paediatr*. 91(9), 897-902, 2002. doi: 10.1080/080352502760272551
- Schlumpf, M., Kypke, K., Wittassek, M., Angerer, J., Mascher, H., Mascher, D., ... Lichtensteiger, W. Exposure patterns of UV filters, fragrances, parabens, phthalates, organochlor pesticides, PBDEs, and PCBs in human milk: Correlation of UV filters with use of cosmetics. *Chemosphere*, 81(10), 1171–1183, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.079>
- Shoji H, Oguchi S, Shimizu T, et al. Effect of human breast milk on urinary 8- hydroxy-29-deoxyguanosine excretions in infants. *Pediatr Res* 53:850–2, 2003.
- Shrestha P, Joshi B, Joshi J, et al. Isolation and physicochemical characterization of laccase from *Ganoderma lucidum*-CDBT1 isolated from its native habitat in Nepal. *Biomed Res Int*. 2016:3238909, 2016. doi:10.1155/2016/3238909
- Shrestha P, Ni J, Wong TY. Synergistic and antagonistic interactions of triclosan with various antibiotics in bacteria. *J Environ Sci Health, Part C*. 38(3), 1–17, 2020a.
- Shrestha P, Zhang Y, Chen WJ, Wong TY. Triclosan: antimicrobial mechanisms, antibiotics interactions, clinical applications, and human health. *Journal of Environmental Science and Health, Part C, Toxicology and Carcinogenesis*, 38, 3, 245–268, 2020. <https://doi.org/10.1080/26896583.2020.1809286>
- Soni MG, Carabin IG, Burdock GA. Safety assessment of esters of phydroxybenzoic acid (parabens). *Food Chem. Toxicol*. 43 (7), 985-1015, 2005.
- Sogorb MA, Estvez J, Vilanova, E. Case study: Is bisphenol S safer than bisphenol A in thermal papers?. *Arch. Toxicol*. 93, 1835–1852, 2019.
- Stanley I, Chung M, Raman G, Trikalinos TA, Lau J. A summary of the Agency for Healthcare Research and Quality's evidence report on breastfeeding in developed countries. *Breastfeed Med*. 2009 Oct;4 Suppl 1:S17-30. doi: 10.1089/bfm.2009.0050.
- Suskind RM, Lewinter-Suskind L (eds). *Textbook of Pediatric Nutrition*, 2nd Edition. New York: Raven Press, 1993

- Tavares RS, Martins FC, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J, Peixoto FP. Parabens in male infertility-Is there a mitochondrial connection? *Reprod. Toxicol.* 27 (1), 1-7, 2009.
- Thakkar SK, Giuffrida F, Cristina CH, De Castro CA, Mukherjee R, Tran LA, et al. Dynamics of human milk nutrient composition of women from Singapore with a special focus on lipids. *Am J Hum Biol.* 25:770–9, 2013. doi: 10.1002/ajhb.22446
- Tran, T. M., Minh, T. B., Kumosani, T. A., & Kannan, K. Occurrence of phthalate diesters (phthalates), p-hydroxybenzoic acid esters (parabens), bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) and their derivatives in indoor dust from Vietnam: Implications for exposure. *Chemosphere*, 144, 1553–1559, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.028>
- Tsakiris IN, Goumenou M, Tzatzarakis MN, Alegakis AK, Tsitsimpikou C, Ozcagli EC, Aristidis Tsatsakis. Risk assessment for children exposed to DDT residues in various milk types from the Greek market. *Food and Chemical Toxicology* 75, 156-165, 2015.
- Tsatsakis, A. M., Tzatzarakis, M. N., & Tutudaki, M. Pesticide levels in head hair samples of Cretan population as an indicator of present and past exposure. *Forensic Science International*, 176(1), 67–71, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2007.07.017>
- Turusov V, Rakitsky V, Tomatis L. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): ubiquity, persistence, and risks. *Environ. Health Perspect.* 110, 125–128, 2002.
- Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons WV. Human exposure to bisphenol A (BPA), *Reprod. Toxicol.* 24, 139–177, 2007.
- van Esterik JCJ Dollé MET, Lamoree MH, van Leeuwen SPJ, Hamers T, Legler J, van der Ven LTM. Programming of metabolic effects in C57BL/6JxFVB mice by exposure to bisphenol A during gestation and lactation. *Toxicology* 321, 40–52, 2014.
- Vázquez-Román S, Escuder-Vieco D, Garcí'a-Lara NR, et al. Impact of freezing time on dornic acidity in three types of milk: Raw donor milk, mother's own milk, and pasteurized donor milk. *Breastfeed Med* 11:91–93, 2016.
- Vinas R, Watson CS. Bisphenol S disrupts estradiol-induced nongenomic signaling in a rat pituitary cell line: Effects on cell functions. *Environ. Health Perspect.* 121, 352–358, 2013.
- Von Goetz N, Pirow R, Hart A, Bradley E, Poças F, Arcella D, Lillegard ITL, Simoneau C, van Engelen J, Husoy T, Theobald A, Leclercq C. Including non-dietary sources into an exposure assessment of the European Food Safety Authority: The challenge of multi-sector chemicals such as Bisphenol A. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 85, 70–78, 2017.
- Wall R, Ross RP, Ryan CA, Hussey S, Murphy B, Fitzgerald GF, Stanton C. Role of gut microbiota in early infant development. *Clin Med Pediatr.* 2009 Mar 4;3:45-54. doi: 10.4137/cmped.s2008.
- Wang C, Chen L, Zhao S, et al. Impacts of prenatal triclosan exposure on fetal reproductive hormones and its potential mechanism. 111, 279-286, 2018. doi: 10.1016/j.envint.2017.11.007. Epub 2017 Nov 15.
- Wang C, Yang L, Wang S, Zhang Z, Yu Y, Wang M, ... Wang SL. The classic EDCs, phthalate esters and organochlorines, in relation to abnormal sperm quality: A systematic

- review with meta-analysis. *Scientific Reports*, 6, 1–11, 2016. <https://doi.org/10.1038/srep19982>
- WHO- World Health Organization/UNICEF-United Nations Children's Fund. Geneva, 1990)
- WHO. Infant and young child nutrition. Geneva: 2003.
- WHO, 2013. World Health Organization, and United Nations Environment Programme (UNEP). State of the Science: Endocrine Disrupting Chemicals-2012.
- WHO, 2019. World Health Organization, Infant and Young Child Feeding: Model Chapter for Textbooks for Medical Students and Allied Health Professionals. Geneva
- Wong TY. Smog induces oxidative stress and microbiota disruption. *J Food Drug Anal.* 25(2), 235–244, 2017. doi:10.1016/j.jfda.2017.02.003.
- Woodwell GM, Craig PP, Johnson HA. DDT in the biosphere: where does it go? *Science* 174, 1101e1107, 1971.
- Wu C, Li J, Xia W, et al. The association of repeated measurements of prenatal exposure to triclosan with fetal and early-childhood growth. *Environ Int.*120, 54–62, 2018a. doi:10.1016/j.envint.2018.07.022.
- Wu LH, Zhang XM, Wang F, Gao CJ, Chen D, Palumbo JR, Guo Y, Zeng EY. Occurrence of bisphenol S in the environment and implications for human exposure: A short review. *Sci. Total Environ.* 615, 87–98, 2018b.
- Xie X, Lu C, Wu M, et al. Association between triclocarban and triclosan exposures and the risks of type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 2013-2014)). *Environ Int.* 136, 105445, 2020. doi:10.1016/j.envint.2019.105445.
- Xu J, Huang G, Guo T. Developmental bisphenol A exposure modulates immune-related diseases. *Toxics* 4, 23, 2016.
- Xu J, Huang G, Nagy T, Guo TL. Bisphenol A alteration of type 1 diabetes in non-obese diabetic (NOD) female mice is dependent on window of exposure. *Arch. Toxicol.* 93, 1083–1093, 2019.
- Xue J, Kannan K. Accumulation profiles of parabens and their metabolites in fish, black bear, and birds, including bald eagles and albatrosses. 94, 546–553, 2016.
- Yang H, Wang W, Romano KA, et al. A common antimicrobial additive increases colonic inflammation and colitis-associated colon tumorigenesis in mice. *Sci Transl Med.* 10(443), 1–11, 2018. doi:10.1126/scitranslmed.aan4116.
- Yao L, Lv YZ, Zhang LJ, et al. Determination of 24 personal care products in fish bile using hybrid solvent precipitation and dispersive solid phase extraction cleanup with ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 1551, 29–40, 2018. doi:10.1016/j.chroma.2018.04.003.

Yu HY, Shen RL, Liang Y, Cheng H, Zeng EY. Inputs of antifouling paint-derived dichlorodiphenyltrichloroethanes (DDTs) to a typical mariculture zone (South China): potential impact on aquafarming environment. *Environ. Pollut.* 159, 3700e3705, 2011.

Yu Y, Li W, Lu S, Wu S, Wang F, Tse LA, Kang L, Shengtao M. Urinary parabens in adults from South China: Implications for human exposure and health risks. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 182, 30, 109419, 2019

Yue Y, Wang Z, Zhang Y, et al. Binding of triclosan and triclocarban to pepsin: DFT, spectroscopic and dynamic simulation studies. *Chemosphere*. 214, 278–287, 2019. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.09.108.

Zhang G, Min YS, Mai BX, Sheng GY, Fu JM, Wang ZS. Time trend of BHCs and DDTs in a sedimentary core in Macao Estuary, Southern China. *Mar. Pollut. Bull.* 39, 326–330, 1999.

Zhou R, Zhu L, Yang K, Chen Y. Distribution of organochlorine pesticides in surface water and sediments from Qiantang River, East China. *J. Hazard. Mater.* 137, 68–75, 2006.

Zhao RS, Wang X, Sun J, Wang SS, Yuan JP, Wang XK. Trace determination of triclosan and triclocarban in environmental water samples with ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction prior to HPLC-ESI-MS-MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 397 (4), 1627-1633, 2010.

Από ιστοσελίδες

National Institute of Environmental Health Sciences, Toxicology, 2019; <https://www.niehs.nih.gov/health/topics/science/toxicology/index.cfm>

<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Parabens.png>

Μαρία Παρασκευά και Γεωργία Ίσαρη. Μητρικό γάλα: Πλούσιο σε αντιοξειδωτικά, 2012 (<https://www.mednutrition.gr/portal/lifestyle/oikogeneia/5837-mitriko-gala-ploysio-se-antiokseidotika?fbclid=IwAR0AcZwIK989VfAIqN27mnAwiwnhlzHyAfVn3DQzedBrzwVIEL0fAL6UwHY>).

https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9C%CE%B7%CF%84%CF%81%CE%B9%CE%BA%CF%8C_%CE%B3%CE%AC%CE%BB%CE%B1

Κυριακή Απέργη, 2016. Τα οφέλη του θηλασμού για τη μαμά και το μωρό (https://www.diatrofi.gr/diatrofi-kai-zoi/thilasmus/%cf%84%ce%b1-%ce%bf%cf%86%ce%ad%ce%bb%ce%b7-%cf%84%ce%bf%cf%85-%ce%b8%ce%b7%ce%bb%ce%b1%cf%83%ce%bc%ce%bf%cf%8d/?fbclid=IwAR29mhAURSE5h2DLjacXaYL8X8xGd027KgJMTh1a-s1GOGD0AHGi_T1I0RE)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

Υπόδειγμα του ερωτηματολογίου που χρησιμοποιήθηκε



Πανεπιστήμιο Κρήτης
Τμήμα Ιατρικής
Τομέας Μορφολογίας

Εργαστήριο Τοξικολογίας και Εγκληματολογικής Χημείας

Ερωτηματολόγιο

Ημερομηνία

...../...../2020

(Συμπληρώνεται από τη μητέρα)

Κωδικός:.....

Στοιχεία Μητέρας

Όνοματεπώνυμο:.....

.....

Τηλέφωνο

επικοινωνίας:

κινητό.....σταθερό.....

Ηλικία:..... ετών, Ύψος:..... cm

Τόπος κατοικίας : Αγροτική περιοχή [] Αστική περιοχή []

Σωματικό βάρος πριν την εγκυμοσύνη..... κιλά μετά την εγκυμοσύνη κιλά

Επίπεδο Μόρφωσης: Α/Βάθμια Εκπαίδευση [] Β/Βάθμια Εκπαίδευση [] Γ/Βάθμια
Εκπαίδευση []

Επάγγελμα: Δημόσιος Τομέας [] Ιδιωτικός Τομέας []

Θέση

εργασίας:.....

.....

Γενικές Ερωτήσεις

1. Περιβάλλον

- Ύπαρξη πλαστικής ταπετσαρίας τοίχου ή δαπέδου:
ναι, στο σπίτι [], ναι, στο χώρο εργασίας [], όχι []
- Χρήση αποσμητικού χώρου:
ναι, στο σπίτι [] ναι, στο χώρο εργασίας [] όχι []
- Πηγή πόσιμου νερού στο σπίτι: νερό δικτύου [] εμφιαλωμένο νερό []
- Παρουσία πλαστική δεξαμενή αποθήκευσης του νερού ναι [] όχι []
- πλαστικοί σωλήνες μεταφοράς του νερού ναι [] όχι []

3. Χρήση προϊόντων καθαριότητας και προσωπικής φροντίδας

- Συχνότητα χρήσης καλλυντικών και προϊόντων περιποίησης κατά την εγκυμοσύνη:

	Καθημερινά	Εβδομαδιαία	Μηνιαία	Ποτέ
Υγρό σαπούνι	[]	[]	[]	[]
Υγρό απορρυπαντικό πιάτων	[]	[]	[]	[]
Μαλακτικό ρούχων	[]	[]	[]	[]
Απολυμαντικά	[]	[]	[]	[]

- Συχνότητα χρήσης καλλυντικών και προϊόντων περιποίησης πριν την εγκυμοσύνη:

	Καθημερινά	Εβδομαδιαία	Μηνιαία	Ποτέ
Αποσμητικό σώματος	[]	[]	[]	[]
Αφρόλουτρο	[]	[]	[]	[]
Σαμπουάν	[]	[]	[]	[]
Άρωμα	[]	[]	[]	[]
Προϊόντα μακιγιάζ	[]	[]	[]	[]
Βερνίκι νυχιών	[]	[]	[]	[]
Σπρέι/γέλη μαλλιών	[]	[]	[]	[]
Κρέμα/λοσιόν σώματος	[]	[]	[]	[]
Αντηλιακό	[]	[]	[]	[]
Βαφές μαλλιών	[]	[]	[]	[]

- Συχνότητα χρήσης καλλυντικών και προϊόντων περιποίησης κατά την εγκυμοσύνη:

	Καθημερινά	Εβδομαδιαία	Μηνιαία	Ποτέ
Αποσμητικό σώματος	[]	[]	[]	[]
Αφρόλουτρο	[]	[]	[]	[]

Σαμπουάν	[]	[]	[]	[]
Άρωμα	[]	[]	[]	[]
Προϊόντα μακιγιάζ	[]	[]	[]	[]
Βερνίκι νυχιών	[]	[]	[]	[]
Σπρέι/γέλη μαλλιών	[]	[]	[]	[]
Κρέμα/λοσιόν σώματος	[]	[]	[]	[]
Αντηλιακό	[]	[]	[]	[]
Βαφές μαλλιών	[]	[]	[]	[]

4. Διατροφικές συνήθειες

- Αποθήκευση τροφίμων σε πλαστικά σκεύη:

Καθημερινά [] συχνά [] σπάνια [] ποτέ []

- Χρήση πλαστικής μεμβράνης περιτύλιξης τροφίμων:

καθημερινά [] συχνά [] σπάνια [] ποτέ []

- Κατανάλωση συσκευασμένων τροφίμων:

καθημερινά [] συχνά [] σπάνια [] ποτέ []

Συσκευασία: πλαστικό [] αλουμίνιο [] χαρτί []
 άλλο.....

- Κατανάλωση αναψυκτικών:

καθημερινά [] συχνά [] σπάνια [] ποτέ []

Συσκευασία: πλαστικό [] αλουμίνιο [] χαρτί []
 άλλο.....

- Κατανάλωση συσκευασμένων χυμών:

καθημερινά [] συχνά [] σπάνια [] ποτέ []

Συσκευασία: πλαστικό [] αλουμίνιο [] χαρτί []
 άλλο.....

- Κατανάλωση σνακ (πατατάκια, γαριδάκια, κτλ.):

καθημερινά [] συχνά [] σπάνια [] ποτέ []

- Συχνότητα κατανάλωσης:

Κόκκινου κρέατος..... φορές ανά εβδομάδα (βοδινό, χοιρινό, αρνί, κατσίκι)

Λαχανικών..... φορές ανά εβδομάδα

Πουλερικών..... φορές ανά εβδομάδα

Γαλακτοκομικών προϊόντων..... φορές ανά εβδομάδα

Ψάρι..... φορές ανά εβδομάδα

- Κάπνισμα πριν την κύηση: ποτέ [] σπάνια [] συστηματικά [] Έτη καπνίσματος:.....
- Κάπνισμα κατά την κύηση: ποτέ [] σπάνια [] συστηματικά []
- Κατανάλωση οινόπνεύματος κατά την κύηση: ποτέ [] σπάνια [] συστηματικά []

Ιατρικό και Μαιευτικό Ιστορικό Μητέρας

Χρόνιες ασθένειες: ναι [] όχι [] Αν ναι, ποιες;.....

Αναπνευστικά προβλήματα: ναι [] όχι [] Αν ναι, ποια;.....

Αλλεργικά συμπτώματα: ναι [] όχι [] Αν ναι, ποια;.....

Γυναικολογικό πρόβλημα: ναι [] όχι [] Αν ναι τι πρόβλημα;.....

Προβλήματα σε προηγούμενη κύηση: ναι [] όχι [] Αν ναι, ποια;.....

Παρούσα Κύηση

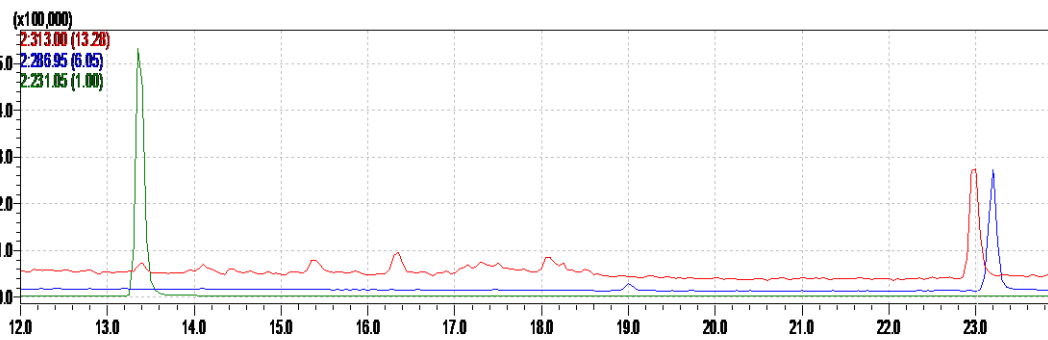
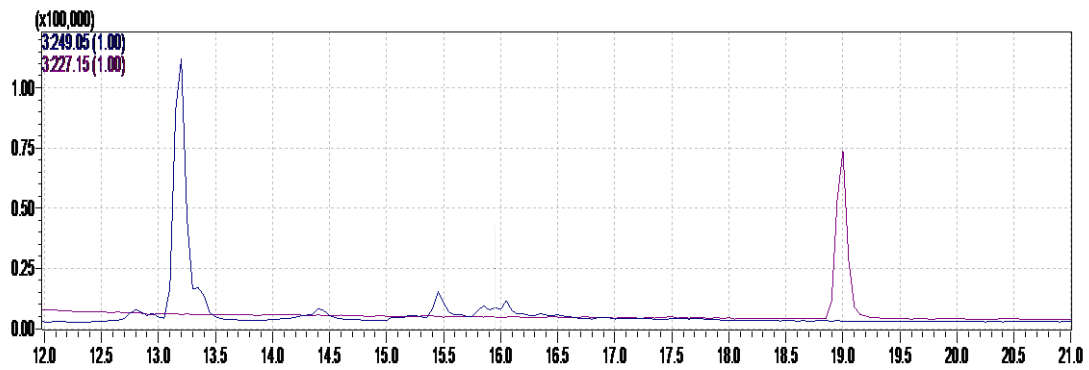
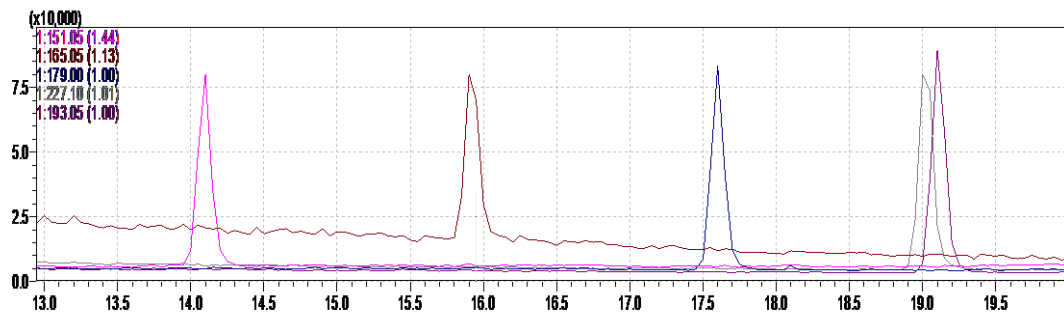
Εξωσωματική γονιμοποίηση: ναι [] όχι []

Προβλήματα στην παρούσα κύηση: ναι [] όχι [] Αν ναι, ποια;.....

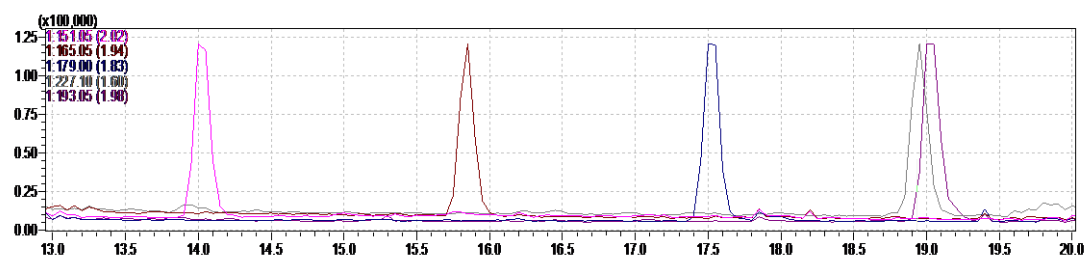
Νοσηλεία κατά τη διάρκεια της κύησης: ναι [] όχι []

Δείγματα που ελήφθησαν Μητρικό γάλα []

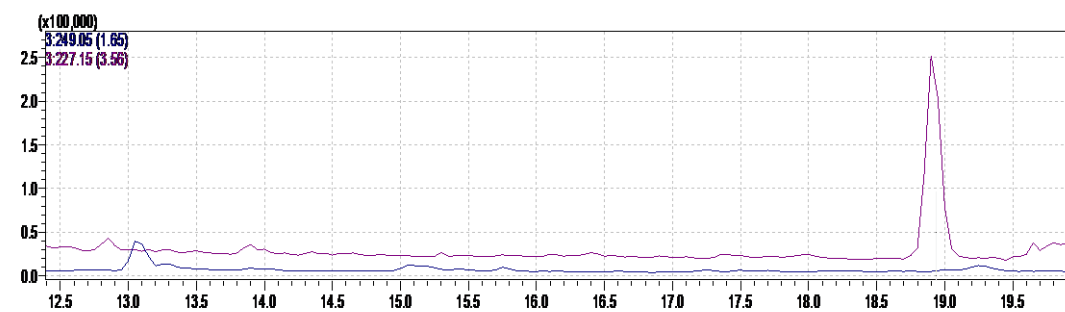
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β



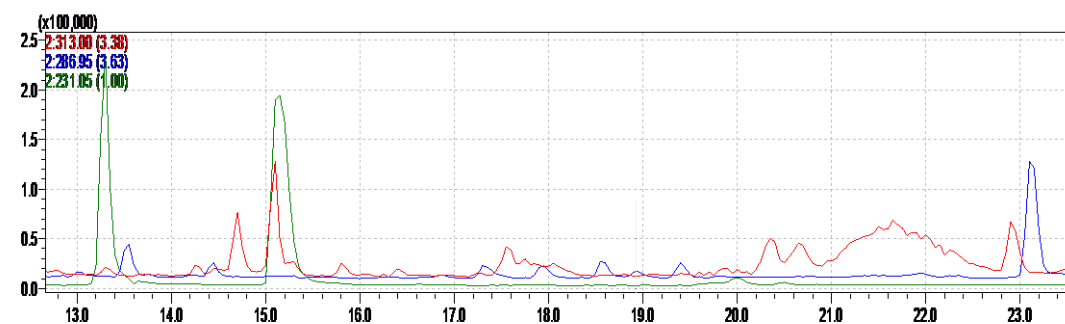
Χρωματογράφημα πρότυπου πολυσυστατικού διαλύματος σε επίπεδο 100 ng/ml (A) MetP, EtP, ProP, BzP και ButP (B) BPS και BPA, (Γ) IS και TCS



(A)

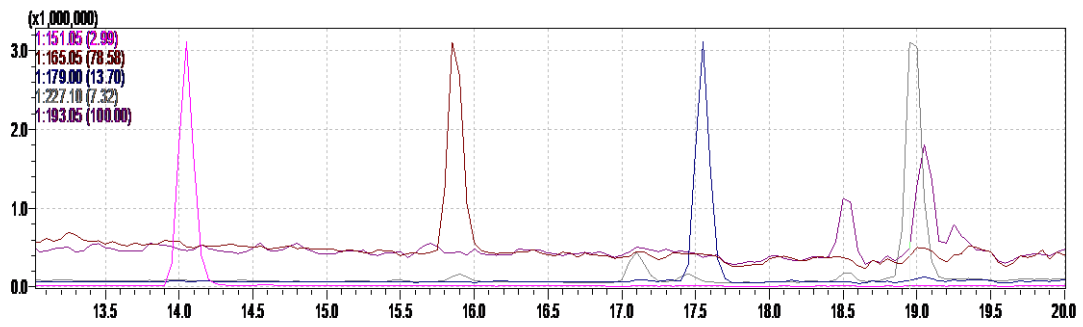


(B)

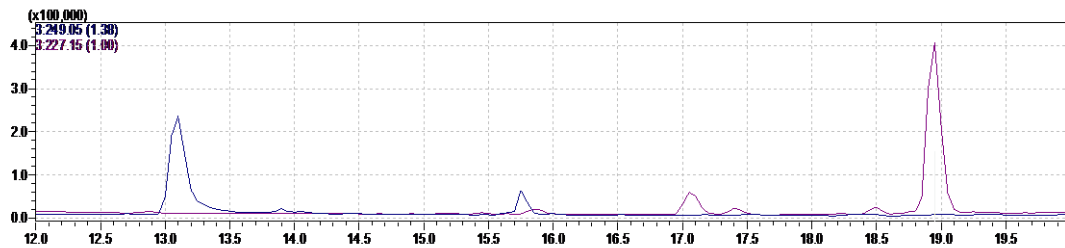


(Γ)

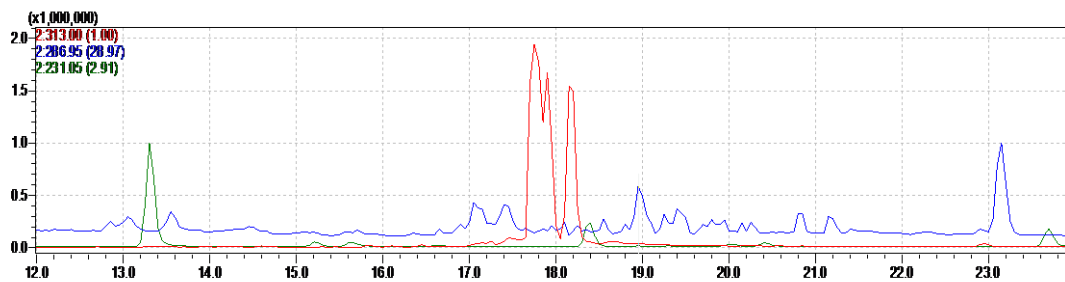
Χρωματογράφημα επιμολυσμένου δείγματος γάλατος σε επίπεδο 4 ng/ml (A) MetP, EtP, ProP, BenzP και ButP (B) BPS και BPA, (Γ) IS και TCS



(A)



(B)



(Γ)

Χρωματογράφημα δείγματος γάλακτος θετικό για (A) MetP, EtP, ProP, BzP και ButP (B) BPS και BPA, (Γ) TCS

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ

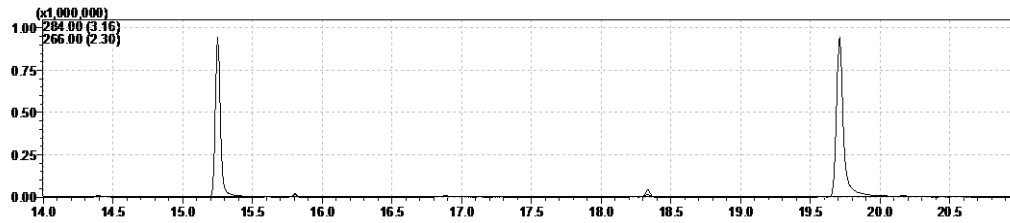
Οι ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις των παραβενίων, των δισφαινολών και της τρικλοζάνης στα δείγματα γάλακτος.

sample	BPS	MenP	EthP	ProP	BPA	BenzP	ButP	TCS
1	ND	0,33	0,33	0,39	0,09	ND	0,25	0,13
2	0,19	10,58	0,60	2,07	0,43	0,41	0,46	3,81
3	ND	22,09	0,42	8,66	0,36	0,41	0,36	2,51
4	ND	0,50	0,20	1,57	0,48	0,45	0,25	ND
5	ND	1,52	0,41	2,89	ND	ND	0,32	2,94
6	0,11	0,49	0,21	0,48	4,33	3,97	0,09	0,40
7	ND	2,38	ND	0,89	ND	0,09	0,27	ND
8	0,11	3,05	0,62	2,36	1,93	1,72	0,20	0,44
9	ND	0,14	ND	0,24	ND	ND	ND	0,07
10	ND	ND	ND	1,19	ND	ND	0,39	0,59
11	0,07	0,89	0,60	1,04	0,11	0,10	0,07	0,35
12	ND	0,94	0,71	1,46	0,20	0,17	0,40	0,25
13	0,14	2,07	1,79	2,75	0,14	0,19	0,25	0,22
14	ND	1,47	0,99	1,85	0,12	0,36	0,26	0,43
15	19,99	66,52	2,89	17,56	25,81	32,62	1,02	4,80
16	0,44	12,29	1,40	5,65	0,55	0,34	0,84	0,16
17	ND	0,71	0,48	0,99	0,12	0,15	0,02	0,26
18	ND	0,09	0,31	0,20	0,21	0,12	0,15	0,90
19	ND	0,23	0,17	0,28	0,17	0,12	0,06	0,06
20	ND	64,67	0,78	15,43	0,39	0,35	0,58	0,92
21	ND	293,80	245,39	16,99	0,35	0,23	0,15	0,34
22	ND	0,36	0,60	0,30	0,25	0,22	0,51	0,19
23	ND	0,23	0,50	0,25	0,22	0,11	0,28	0,29
24	4,03	2,27	ND	ND	0,12	ND	ND	0,32
25	ND	0,30	ND	ND	1,42	ND	ND	0,33

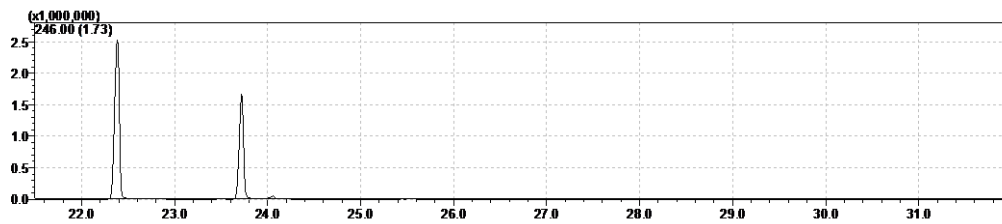
26	0,65	0,09	ND	ND	ND	ND	ND	0,35
27	ND	1,07	0,27	0,78	ND	ND	ND	0,28
28	0,07	0,50	ND	0,27	0,09	0,07	0,04	28,77
29	ND	22,57	37,28	ND	0,46	0,37	ND	5,96
30	ND	2,06	1,12	2,79	ND	ND	ND	0,21
31	ND	0,30	ND	0,12	0,06	ND	ND	0,78
32	ND	1,11	ND	0,45	0,11	ND	ND	0,40
33	ND	2,89	1,07	0,63	0,33	0,24	0,25	2,22
34	ND	0,16	ND	0,21	ND	ND	ND	1,64
35	ND	0,20	0,16	ND	ND	ND	ND	0,69
36	ND	0,44	ND	0,26	0,06	ND	ND	1,63
37	ND	2,66	0,79	ND	0,05	ND	ND	0,91
38	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	7,49
39	ND	0,09	ND	0,09	ND	ND	ND	0,77
40	ND	26,93	ND	3,90	0,07	ND	ND	0,59
41	ND	0,67	0,79	ND	0,08	ND	ND	0,07
42	ND	1,27	ND	0,37	4,36	3,73	ND	1,91
43	ND	0,66	ND	0,15	0,30	0,43	0,04	1,41
44	ND	2,34	0,71	0,32	0,10	0,10	0,22	2,18
45	ND	1,07	2,95	0,81	0,25	0,15	ND	46,49
46	ND	0,25	ND	ND	0,28	ND	0,07	1,46
47	ND	0,72	ND	0,12	0,08	ND	ND	0,27
48	ND	1,91	0,99	0,48	0,32	0,21	ND	3,97
49	ND	0,35	ND	ND	ND	ND	ND	5,90

ND: not detected

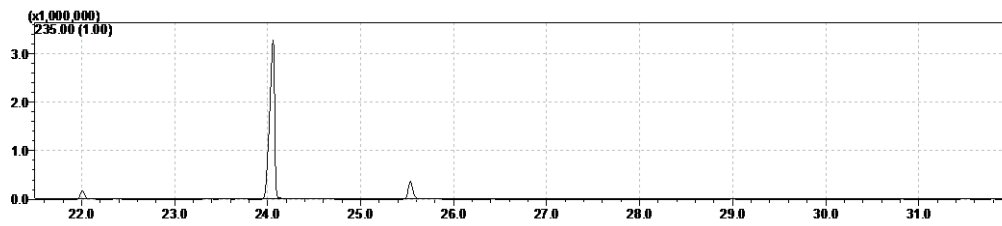
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Δ



(A)

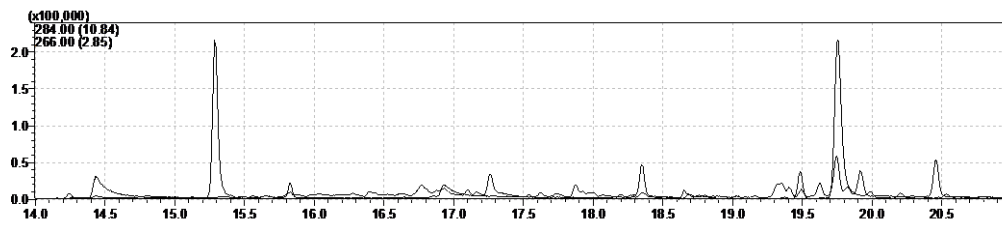


(B)

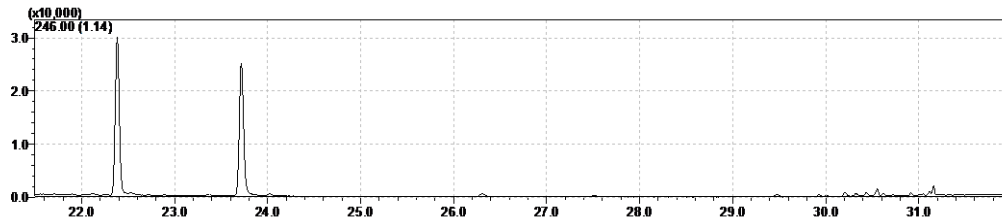


(Γ)

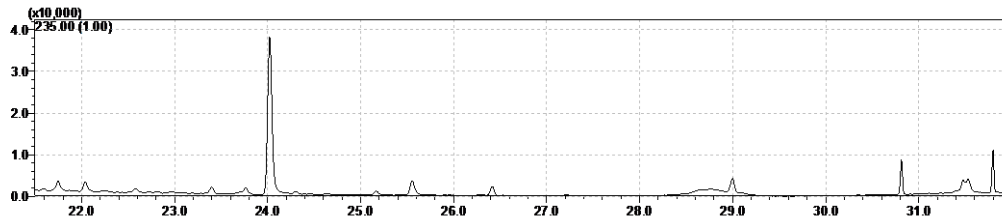
Χρωματογραφήματα πρότυπων ουσιών σε ποσότητα 25 ng για (A) HCB (και ES 10ng) B) opDDE και ppDDE και Γ) opDDD και ppDDD & opDDT



(A)

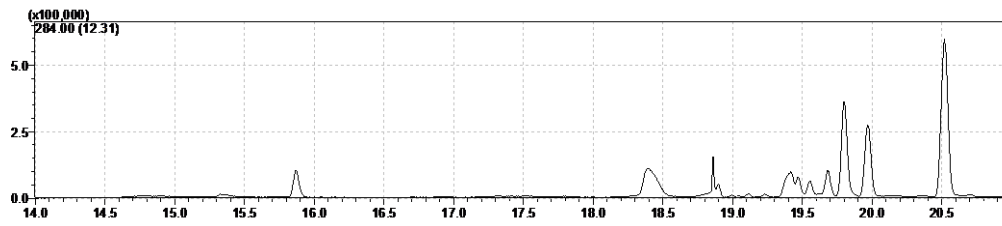


(B)

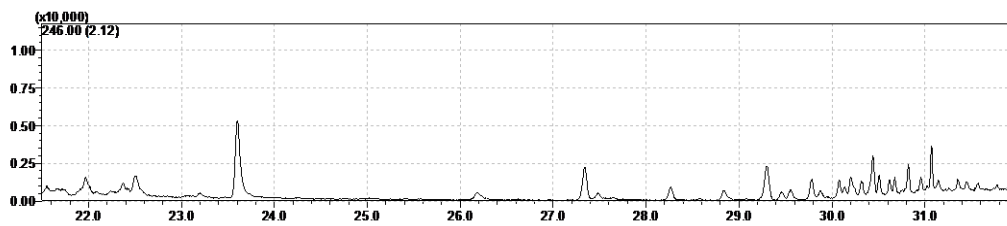


(Γ)

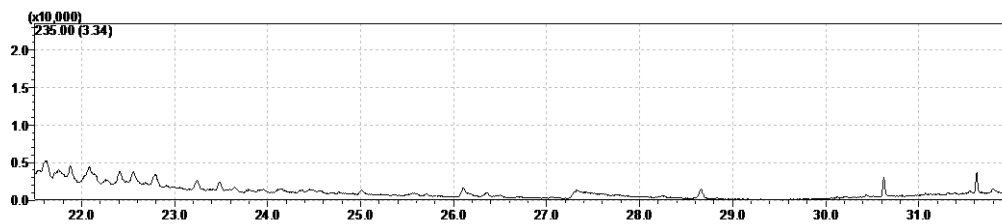
Χρωματογραφήματα επιμολυσμένου δείγματος μητρικού γάλακτος σε συγκέντρωση 1 ng/ml για (A) HCB (και ES 10ng) B) opDDE και ppDDE και Γ) opDDD και ppDDD & opDDT



(A)

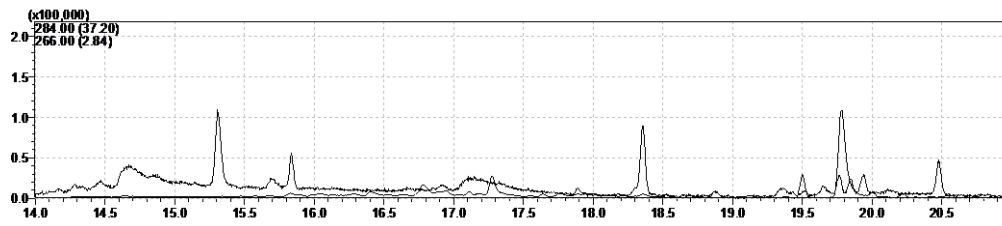


(B)

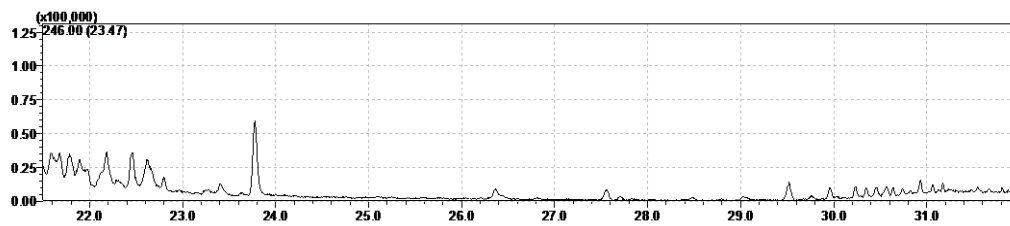


(Γ)

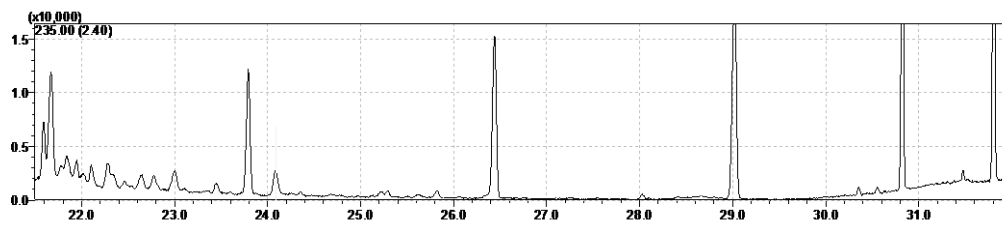
Χρωματογραφήματα αρνητικού δείγματος μητρικού γάλακτος για (A) HCB B) opDDE
(θετικό για ppDDE) και Γ) opDDD και ppDDD & opDDT



(A)



(B)



(Γ)

Χρωματογραφήματα θετικού δείγματος μητρικού γάλακτος για (A) HCB B) opDDE και ppDDE και Γ) opDDD

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ε

Οι ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις των HCB, των ισομέρων του DDT και το συνολικό φορτίο (SUM DDTs) στα δείγματα γάλακτος.

Sample	HCB	opDDE	ppDDE	opDDD	ppDDD+opDDT	SUM DDTs
1	0,40	ND	1,52	0,07	ND	1,59
2	0,21	0,04	2,87	0,04	<LOQ	2,95
3	ND	0,28	0,80	0,15	0,37	1,59
4	0,22	0,06	0,69	0,08	0,12	0,94
5	0,15	ND	2,74	0,03	<LOQ	2,76
6	0,48	ND	1,99	0,06	ND	2,05
7	ND	ND	0,64	0,22	0,38	1,24
8	ND	0,04	1,13	0,04	0,08	1,29
9	0,27	0,13	1,12	0,11	0,22	1,58
10	0,57	0,08	1,91	0,09	ND	2,08
11	0,81	0,01	0,28	ND	ND	0,29
12	0,82	0,38	1,21	0,03	0,81	2,42
13	1,42	0,26	0,74	ND	ND	1,01
14	0,98	0,04	0,64	ND	ND	0,68
15	1,11	ND	0,66	ND	ND	0,66
16	1,10	0,07	3,70	ND	0,41	4,17
17	1,08	0,10	3,86	ND	0,78	4,73
18	2,08	ND	0,52	ND	ND	0,52
19	4,62	0,10	2,59	ND	ND	2,69
20	3,17	0,05	0,40	ND	ND	0,45
21	1,45	ND	0,50	0,01	ND	0,52
22	3,63	0,14	2,93	ND	ND	3,08
23	1,86	0,01	0,44	ND	ND	0,45
24	0,24	ND	0,22	ND	ND	0,22
25	0,15	ND	0,17	ND	ND	0,17

26	0,06	ND	0,09	ND	ND	0,09
27	0,15	ND	0,52	ND	ND	0,52
28	0,31	0,01	2,06	ND	0,05	2,12
29	0,35	ND	0,63	ND	0,08	0,70
30	0,40	ND	0,73	0,01	ND	0,74
31	0,21	ND	0,13	ND	<LOQ	0,13
32	0,36	ND	1,46	ND	0,05	1,51
33	0,42	ND	0,38	ND	ND	0,38
34	0,31	ND	0,37	ND	ND	0,37
35	0,45	ND	1,55	ND	ND	1,55
36	0,60	0,05	8,37	0,02	0,31	8,76
37	0,49	ND	1,11	ND	0,09	1,21
38	0,32	ND	1,09	ND	<LOQ	1,09
39	0,35	ND	1,26	ND	0,12	1,38
40	0,41	ND	0,88	ND	0,17	1,05
41	0,42	ND	2,06	ND	ND	2,06
42	0,50	ND	3,63	ND	0,16	3,79
43	0,55	ND	2,67	ND	0,05	2,72
44	0,28	ND	1,08	ND	0,07	1,15
45	0,39	ND	2,63	0,01	ND	2,64
46	0,73	1,35	3,63	0,21	2,35	7,55
47	0,50	0,04	5,48	0,02	<LOQ	5,54

ND: not detected