



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των τοξικών μετάλλων (καδμίου και μολύβδου) στα αλιεύματα σαρδέλα (*Sardinia pilchardus*), γάδρο (*Engraulis encrasicolus*) και καλαμάρι (*Loligo opalescens*). Διερεύνηση των μηχανισμών μεταβολής της συγκέντρωσης των μετάλλων κατά τη μεταποίηση των αλιευμάτων με θερμική επεξεργασία και κονσερβοποίηση.

ΑΥΓΟΥΣΤΙΝΑ ΓΚΑΛΙΤΣΟΠΟΥΛΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

2014



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των τοξικών μετάλλων (καδμίου και μολύβδου) στα αλιεύματα σαρδέλα (*Sardinia pilchardus*), γάυρο (*Engraulis encrasicolus*) και καλαμάρι (*Loligo opalescens*). Διερεύνηση των μηχανισμών μεταβολής της συγκέντρωσης των μετάλλων κατά τη μεταποίηση των αλιευμάτων με θερμική επεξεργασία και κονσερβοποίηση.

ΑΥΓΟΥΣΤΙΝΑ ΓΚΑΛΙΤΣΟΠΟΥΛΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

2014

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2»

Ορισμός Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 765Α/ 18-12-2009

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων:

Κοντομηνάς Μιχαήλ, καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη:

Ρηγανάκος Κυριάκος, αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μπαδέκα Αναστασία, λέκτορας, Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 18-12-2009

Θέμα: «Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των τοξικών μετάλλων (καδμίου και μολύβδου) στα αλιεύματα σαρδέλα (*Sardinia pilchardus*), γαύρο (*Engraulis encrasicolus*) και καλαμάρι (*Loligo opalescens*). Διερεύνηση των μηχανισμών μεταβολής της συγκέντρωσης των μετάλλων κατά τη μεταποίηση των αλιευμάτων με θερμική επεξεργασία και κονσερβοποίηση»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 886^Α/20-06-2004

1. Κοντομηνάς Μιχαήλ, καθηγητής Τμ. Χημείας Παν/μίου Ιωαννίνων
2. Σαμανίδου Βικτωρία, αναπληρώτρια καθηγήτρια Τμ. Χημείας, Α.Π.Θ.
3. Μπλέκας Γεώργιος, αναπληρωτής καθηγητής Τμ. Χημείας, Α.Π.Θ.
4. Ρηγανάκος Κυριάκος, αναπληρωτής καθηγητής, Τμ. Χημείας, Α.Π.Θ.
5. Τασιούλα Μαρία, επ. καθηγήτρια Τμ. Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων
6. Μπαδέκα Αναστασία, λέκτορας, Τμ. Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων
7. Ναθαναηλίδης Κοσμάς, καθηγητής, Τμ. Αλιείας και Υδατοκαλλιεργιών, ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «άριστα» στις 27-06-2014

Ο Πρόεδρος του Τμήματος Χημείας
Τσίκαρης Βασίλειος, Καθηγητής

Η Γραμματέας του Τμήματος
Ελένη Αδαμαντίου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στην ολοκλήρωση της διατριβής αυτής βοήθησαν πολλοί και αξιόλογοι άνθρωποι με τους οποίους είχα την τύχη να συνεργαστώ. Θα ήθελα λοιπόν να τους ευχαριστήσω για τη στήριξη που μου παρείχαν.

Καταρχήν θέλω να ευχαριστήσω τον επιβλέποντά μου, Καθηγητή Δρ. Μιχάλη Γ. Κοντομηνά, για την πραγματική ευκαιρία που μου έδωσε να εκπονήσω τη παρούσα διδακτορική διατριβή. Θερμές ευχαριστίες για καθοδήγηση και την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου καθ' όλη την περίοδο. Η στήριξή του ήταν άμεση και συνεχής και η καθοδήγησή του ουσιαστική, έτσι ώστε να ξεπεραστούν όλες οι δυσκολίες που παρουσιάστηκαν. Θα ήταν επίσης αμέλειά μου να μην τονίσω την άμεση ανταπόκρισή του κ. Κοντομηνά σε θέματα ανασκόπησης και διορθώσεων, τόσο στη διατριβή, όσο και στις επιστημονικές δημοσιεύσεις των αποτελεσμάτων.

Τις θερμότερές μου ευχαριστίες θέλω επίσης να απευθύνω στην Λέκτορα Αναστασία Μπαδέκα και στον Αναπληρωτή Καθηγητή Κυριάκο Ρηγανάκο, μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, για την επιστημονική υποστήριξή τους κατά τη διάρκεια της διδακτορικής μου εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα υπόλοιπα μέλη της Επταμελούς Επιτροπής, την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βικτωρία Σαμανίδου, τον Αναπληρωτή Καθηγητή Γεώργιο Μπλέκα, τον Καθηγητή Κοσμά Ναθαηλίδη και την Επίκουρη Καθηγήτρια Μαρία Τασιούλα-Μάργαρη που συνέβαλαν ουσιαστικά στην επιτυχή ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής, δείχνοντας έμπρακτο ενδιαφέρον και βελτιώνοντας τη διατριβή μου με συμβουλές και χρήσιμες υποδείξεις.

Ευχαριστώ πολύ την εταιρία Κονσερβοποιία Βορείου Αιγαίου Α.Ε.Β.Ε. για την ευκαιρία που μου έδωσε για να εκπονήσω την διδακτορική μου διατριβή, καλύπτοντας οποιαδήποτε ανάγκη για την εκπόνηση της πειραματικής μου διεργασίας και παρέχοντας έμπρακτα το χέρι της συνεργασίας στην ακαδημαϊκή μου έρευνα. Εύχομαι η συνεργασία μας να γίνει παράδειγμα για επόμενες συμπράξεις έρευνας και βιομηχανίας.

Δεν θα μπορούσα να ξεχάσω τη συμβολή της διοίκησης της εταιρίας Ελαιώνες Χαλκιδικής Α.Ε.- κ. Ιωάννη και κ. Γιώργο Χίγκα- για την έμπρακτη συμπαράσταση και κατανόηση, διαθέτοντας σε εμένα χωρίς δεύτερη σκέψη, αδειοδότηση ζωτικής σημασίας ώστε να ολοκληρώσω το ακαδημαϊκό μου έργο.

Πολλές ευχαριστίες θέλω να εκφράσω στους γονείς μου για την απέραντη αγάπη και στήριξη που μου προσφέρουν. Ιδιαίτερες ευχαριστίες στους δικούς μου ανθρώπους, Σπύρο, Νατάσα, Νίκη, Ευαγγελία, Ράνια, Χρύσα και Γιάννη, για την στήριξη και θετική τους σκέψη, χωρίς τους οποίους δεν θα είχα καταφέρει να αγγίξω αυτό που πολλές φορές έμοιαζε αδύνατο να συμβεί.

Τέλος, ένα ξεχωριστό ευχαριστώ μέσα από την καρδιά μου στον Δρ. Δημήτριο Γεωργαντέλη, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ξεκινήσω αλλά και να ολοκληρώσω την διδακτορική αυτή διατριβή. Δεν υπάρχουν λόγια ώστε να τον ευχαριστήσω αρκετά

για τη ψυχολογική στήριξη κατά τη διάρκεια της διδακτορικής μου εργασίας. Τον ευχαριστώ για την υπομονή και την κατανόηση που έδειξε, που μοιραζόταν τις συγκινήσεις και τη χαρά μου και που ήταν πάντα δίπλα μου σε ότι και αν συνέβαινε. Τον ευχαριστώ από τα βάθη της καρδιάς μου για τα εφόδια που μου παρείχε, που με βοήθησε να γίνω καλύτερος άνθρωπος και να πραγματοποιήσω τα όνειρά μου.

ΣΥΝΤΟΜΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα έτη 2008-2012 πραγματοποιήθηκε πειραματική έρευνα με αντικείμενο τον προσδιορισμό δύο τοξικών ρύπων, των τοξικών μετάλλων κάδμιο και μόλυβδο σε δύο ενδημικά αλιεύματα της Ελλάδας και της Μεσογείου, την σαρδέλα *sardina pilchardus* και το γαύρο *Engraulis encrasicolus* και στο καλαμάρι Καλιφόρνιας *Loligo opalescens*. Η πειραματική μελέτη στόχευσε στην καταγραφή της συγκέντρωσης των δύο μετάλλων, με παράλληλη μελέτη της επίδρασης του είδους του ιστού, της εποχής, του μεγέθους των αλιευμάτων και της περιοχής αλίευσης.

Η έρευνα είχε ως επιπλέον βασικό στόχο να καταγράψει και να εξηγήσει τη συμπεριφορά των δύο αυτών τοξικών μετάλλων σε διαφορετικούς ιστούς κατά τη μεταποίηση των θαλασσινών (θερμική επεξεργασία και βιομηχανική κονσερβοποίηση). Έμφαση δόθηκε στο ρόλο των μεταλλοθειονινών, γνωστών πρωτεϊνών – φορέων των μετάλλων στους κυτταρικούς ιστούς αλλά και άλλων κρίσιμων τεχνολογικών παραμέτρων των διεργασιών μεταποίησης. Για την εξέταση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε σύστημα Φασματομετρίας Ατομικής Απορρόφησης (AAS) με φούρνο γραφίτη και διόρθωση Zeeman. Επίσης εφαρμόστηκε και μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού των μεταλλοθειονινών.

Η τοξικολογική αξιολόγηση των νωπών αλιευμάτων αποκάλυψε ότι τόσο η σαρδέλα, όσο και ο γαύρος έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε κάδμιο, που κυμάνθηκε μεταξύ 0,003 και 0,027 mg/kg αντίστοιχα. Αντίθετα, η περιεκτικότητα σε μόλυβδο παρουσίασε υψηλότερες τιμές, μεταξύ 0,037 και 0,297 mg/kg, ενώ κάποια δείγματα προσέγγισαν το μέγιστο όριο της Ε.Ε (0,1 – 0,3 mg/kg) και χρήζουν τακτικής παρακολούθησης. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η περιοχή, η εποχή δειγματοληψίας και το μέγεθος των αλιευμάτων επηρέασαν τις συγκεντρώσεις των δύο μετάλλων. Η περιεκτικότητα των οστών των δύο μικρών ψαριών στα δύο μέταλλα ήταν ιδιαίτερα υψηλή, γεγονός που προκαλεί προβληματισμό σχετικά με το πόσο ασφαλής είναι η κατανάλωσή τους μαζί με το οστό, ως μαγειρεμένα ή κονσερβοποιημένα προϊόντα. Η εφαρμογή των δύο μεταποιητικών πρακτικών συνοδεύτηκε από μια αύξηση στη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων κατά 35% έως 80%. Ο βαθμός επίδρασης της επεξεργασίας εξαρτήθηκε από το είδος του μετάλλου και το βαθμό απομάκρυνσης του νερού από τους ιστούς, στη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας.

Σχετικά με το καλαμάρι *Loligo opalescens*, η συγκέντρωση των δύο βαρέων μετάλλων Cd και του Pb κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα στο μανδύα, μεταξύ 0,01 και 0,38 mg/kg. Αντίθετα, η συγκέντρωση του καδμίου βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη σε ολόκληρο το καλαμάρι, μεταξύ 0,21 έως 1,18 mg/kg, διαφορά που αποδόθηκε στην παρουσία των εντοσθίων στα ολόκληρα καλαμάρια. Η συγκέντρωση του Cd βρέθηκε να μεταβάλλεται σε σχέση με την ηλικία και το φύλο των καλαμαριών, υποδεικνύοντας ότι ορισμένοι φυσιολογικοί παράγοντες μπορεί να επηρεάζουν τη συσσώρευση των βαρέων μετάλλων στα καλαμάρια. Σε κανένα από τα δείγματα δεν παρατηρήθηκαν συγκεντρώσεις υψηλότερες από τα ανώτατα όρια που καθορίζονται από την Ευρωπαϊκή Κοινότητα (1mg/kg) και, επομένως, σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι συγκεντρώσεις του καδμίου και του μολύβδου στο νωπό καλαμάρι *Loligo opalescens* δεν εμπνέουν ανησυχία για την ασφαλή κατανάλωσή του.

Σχετικά με τη μελέτη της επίδρασης που έχει η θερμική επεξεργασία και η κονσερβοποίηση, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η περιεκτικότητα σε κάδμιο επηρεάστηκε και από τις δύο μεθόδους επεξεργασίας, παρουσιάζοντας αύξηση κατά 240% στο μανδύα και 40% στο ολόκληρο καλαμάρι. Ήταν ιδιαίτερα ενδιαφέρον το ότι, η συμπεριφορά του καδμίου κατά την επεξεργασία συνδέθηκε με τις αλλαγές στη συγκέντρωση των μεταλλοθειονινών. Αντιθέτως, η συγκέντρωση του μολύβδου δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την επεξεργασία και δε βρέθηκε να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ μολύβδου και μεταλλοθειονινών στα νωπά ή επεξεργασμένα καλαμάρια. Αυτό υποδηλώνει ότι η μεταποίηση μπορεί να επηρεάσει τις συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων με διαφορετικό τρόπο, λόγω των ειδικών μηχανισμών συσσώρευσης και των χημικών χαρακτηριστικών του κάθε μετάλλου.

Η εκτίμηση της εβδομαδιαίας διαιτητικής πρόσληψης καδμίου και μολύβδου στον ελληνικό και ευρωπαϊκό πληθυσμό αποκάλυψε, ότι παρόλο που δεν καταγράφεται άμεσος κίνδυνος διαιτητικής τοξικότητας από κατανάλωση σαρδέλας, γαύρου ή καλαμαριού Καλιφόρνιας, η χρησιμοποίηση των συγκεντρώσεων που αναφέρονται στα νωπά αλιεύματα μπορεί να οδηγήσει σε υποεκτίμηση της διαιτητικής έκθεσης σε κάδμιο και μολύβδο. Είναι επομένως προτιμότερο να αναθεωρηθεί η μεθοδολογία που χρησιμοποιείται για την εκτιμώμενη διαιτητική πρόσληψη των βαρέων μετάλλων, λαμβάνοντας υπόψη την περιεκτικότητα των μεταποιημένων θαλασσινών σε αυτά.

ABSTRACT

The years 2008-2012 an experimental research was conducted in two toxic pollutants (heavy metals cadmium and lead) in two endemic fish species in Greece and Mediterranean (sardine *Sardina pilchardus*, anchovy *Engraulis encrasicolus*) and in the California squid *Loligo opalescens*. The experimental study aimed at recording the concentration of both heavy metals, and while studying the effect of the type of tissue, age, size and fishery area.

The key objective of the investigation was to record and explain the behavior of heavy metals in different tissues during the processing of seafood (heat treatment and industrial canning). Emphasis was given to the role of metallothioneins, a protein group well known as metal carriers in cell tissues, as well as other critical technological parameters of processing. For sample analysis, an Atomic Absorption Spectrometry system (AAS) with graphite furnace and Zeeman correction was used, as well a method for metallothionein quantification.

Toxicological evaluation of the samples revealed a low Cd content in the raw samples, ranging between 0,003 and 0,027 mg/kg. Pb presented 10 significantly higher values, from 0,037 to 0,297 mg/kg, occasionally reaching the limit of 0,3 mg/kg. Heavy metal levels were particularly higher in bones, thus raising queries about the safe consumption of fish intended to be eaten as a whole, a very common practice for small fish and canned products. The influence of industrial-scale canning showed that canning enhanced heavy metal levels by 35%–80%. The effect of canning depended on metal type and reduction of moisture loss after the steam-roasting step of the canning procedure.

Concerning California squid *Loligo opalescens*, Cd concentration in raw mantle was low, between 0,01-0,29 mg/kg and below tolerance limit of current regulations (1 mg/kg). Respective concentration in whole individuals was significantly higher, ranging from 0,51 to 1,18 mg/kg, attributed to the presence of the visceral part of squid in the whole samples. Cd concentration varied in relation to age and sex of squid, indicating that several physiological factors may influence its accumulation. None of the samples exceeded the maximum levels of lead and cadmium set out by the European Community

(1 mg/kg) and, therefore, according to the results, the squid *Loligo opalescens* poses no concerns about its safe consumption.

Regarding the study of the effects of thermal treatment and canning, results showed that cadmium levels in the mantle and whole squid were considerably affected by both processing practices, reaching a 240% increase in mantle and a 40% increase in whole squid. Interestingly, cadmium behaviour was associated to MT changes during squid processing. On the other hand, lead content was not affected neither from processing or associated to MT content in the raw or processed squid. Therefore, processing operations may affect heavy metals differently, due to the specific metal bioaccumulation and chemical features of each heavy metal type.

The estimate of weekly dietary intake of cadmium and lead in the Greek and European population revealed that although not imminent danger of toxicity from dietary consumption of sardines, anchovies or squid California was recorded, by using the values from fresh fish, results can lead to underestimation of cadmium and lead dietary exposure. It is therefore preferable to revise the methodology used for the estimation of dietary intake, by using the heavy metal values referring to the processed seafood than the levels referring to raw materials.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1. Μέταλλα και τοξικότητα	
1.1. Η δράση των μετάλλων στους οργανισμούς	2
1.2. Τα απαραίτητα μέταλλα	4
1.3. Μέταλλα με τοξική δράση	5
1.4. Τα «βαρέα» μέταλλα	7
1.5. Τοξικότητα και οργανισμοί	8
Κεφάλαιο 2. Πρόσληψη και μεταβολισμός	
2.1. Πρόσληψη	11
2.2. Μεταφορά και αποθήκευση	14
2.3. Αποβολή	17
Κεφάλαιο 3. Κάδμιο	
3.1. Χημεία και γενικά χαρακτηριστικά	20
3.2. Ιστορική αναδρομή	21
3.3. Το κάδμιο στο περιβάλλον	22
3.4. Πηγές έκθεσης και αρνητικές επιπτώσεις	25
Κεφάλαιο 4. Μόλυβδος	
4.1. Χημεία και γενικά χαρακτηριστικά	33
4.2. Ιστορική αναδρομή	34
4.3. Ο μόλυβδος στο περιβάλλον	34
4.4. Πηγές έκθεσης και επιπτώσεις	38
Κεφάλαιο 5. Υδράργυρος	
5.1. Χημεία και γενικά χαρακτηριστικά	43
5.2. Ιστορική αναδρομή	44
5.3. Ο υδράργυρος στο περιβάλλον	46
5.4. Πηγές έκθεσης και επιπτώσεις	48
Κεφάλαιο 6. Μεταλλοθειονίνες	
6.1. Ορισμός και χημικά χαρακτηριστικά	52
6.2. Λειτουργικός ρόλος	56

Κεφάλαιο 7. Τοξικά μέταλλα και ψάρια	
7.1. Γενικά στοιχεία	65
7.2. Νομοθεσία	66
7.3. Επίπεδα ρύπανσης	66
7.3.1. Μεσόγειος	67
7.3.2. Μαύρη θάλασσα	70
7.3.3. Άλλες περιοχές	71
Κεφάλαιο 8. Τοξικά μέταλλα και κεφαλόποδα	
8.1. Γενικά στοιχεία	74
8.2. Νομοθεσία	76
8.3. Επίπεδα ρύπανσης	76
8.3.1. Καλαμάρια και αλιευτικές ζώνες της Μεσογείου, Ατλαντικού, Ινδικού Ωκεανού	77
8.3.2. Χταπόδια και αλιευτικές ζώνες της Μεσογείου, Ατλαντικού, Ινδικού Ωκεανού	81
8.3.3. Άλλα κεφαλόποδα	83
Κεφάλαιο 9. Τοξικά μέταλλα και επεξεργασία τροφίμων	
9.1. Ψάρια	85
9.2. Κεφαλόποδα	90
Κεφάλαιο 10. Φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης	
10.1. Ατομική φασματοσκοπία	94
10.2. Φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης	96
10.3. Φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης φούρνου θερμαινόμενου γραφίτη	97
10.4. Το φαινόμενο και η διόρθωση υπόβαθρου Zeeman	98
10.5. Χημικοί τροποποιητές	100
10.6. Όξινη πέψη με μικροκύματα	100
Κεφάλαιο 11. Στόχος της διατριβής	103

II. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 12. Υλικά

12.1. Δειγματοληψία	107
12.1.1. Σαρδέλα του είδους <i>Sardinia pilchardus</i>	108
12.1.2. Γαύρος του είδους <i>Engraulis encrasicolus</i>	110
12.1.3. Καλαμάρι του είδους <i>Loligo opalescens</i>	111
12.2. Αντιδραστήρια	112
12.3. Οργανολογία	113
12.4. Γυαλικά και άλλα αναλώσιμα	114

Κεφάλαιο 13. Μέθοδοι

13.1. Προκατεργασία των δειγμάτων	115
13.2. Βιομηχανική επεξεργασία των δειγμάτων	116
13.3. Μέθοδος όξινης υγρής πέψης (liquid acid digestion)	119
13.4. Υπολογισμός περιεκτικότητας σε υγρασία (ξηρό υπόλειμμα)	120
13.5. Μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού καδμίου & μόλυβδου με σύστημα φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης με διόρθωση Zeeman	121
13.6. Προσδιορισμός μεταλλοθειονινών	123
13.7. Στατιστική επεξεργασία	124
13.8. Ποιοτικός έλεγχος αναλυτικής εργασίας	125

III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Κεφάλαιο 14. Νωπά ψάρια

14.1. Σαρδέλα	127
14.1.1. Κάδμιο	127
14.1.2. Μόλυβδος	135
14.2. Γαύρος	
14.2.1. Κάδμιο	146
14.2.2. Μόλυβδος	153

Κεφάλαιο 15. Η επίδραση της επεξεργασίας στα ψάρια

15.1. Σαρδέλα	160
15.1.1. Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου	160

15.1.2. Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου	172
15.2. Γάυρος	179
15.2.1. Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου	179
15.2.2. Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου	190
Κεφάλαιο 16. Το Νωπό Καλαμάρι <i>Loligo opalescens</i>	198
16.1. Κάδμιο	198
16.2. Μόλυβδος	206
Κεφάλαιο 17. Η επίδραση της επεξεργασίας στο καλαμάρι <i>Loligo opalescens</i>	212
17.1. Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου	212
17.2. Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου	225
Κεφάλαιο 18. Ο ρόλος των μεταλλοθειονινών στην επεξεργασία του καλαμαριού	233
18.1. Οι μεταλλοθειονίνες στο νωπό καλαμάρι και η επίδραση της επεξεργασίας	233
18.2. Η σχέση μεταξύ των μεταλλοθειονινών και των τοξικών μετάλλων (Cd, Pb)	239
Κεφάλαιο 19. Εκτίμηση της εβδομαδιαίας πρόσληψης του Cd και Pb	243
Κεφάλαιο 20. Οι συντελεστές επεξεργασίας του Cd και Pb	246

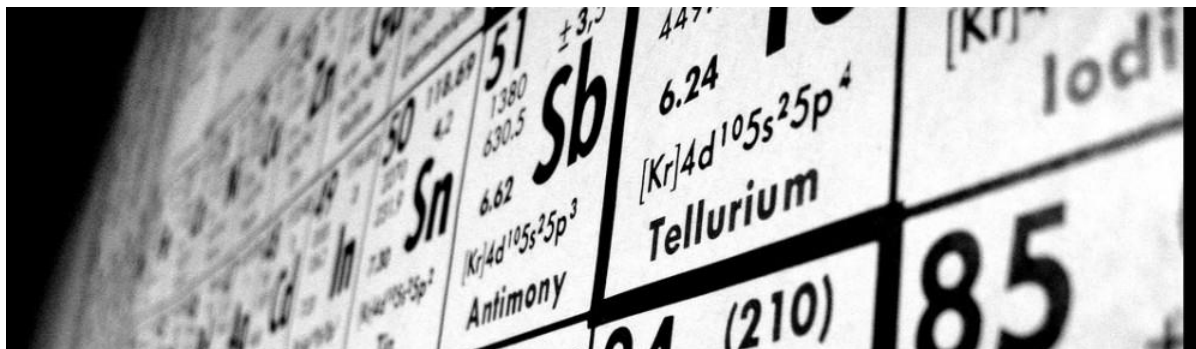
IV. Συμπεράσματα 249

V. Βιβλιογραφία 259

Παράρτημα 1. Πίνακες δεδομένων	xv
Παράρτημα II. Ερευνητικές Δημοσιεύσεις των αποτελεσμάτων	xxi

Ι. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ

ΜΕΡΟΣ



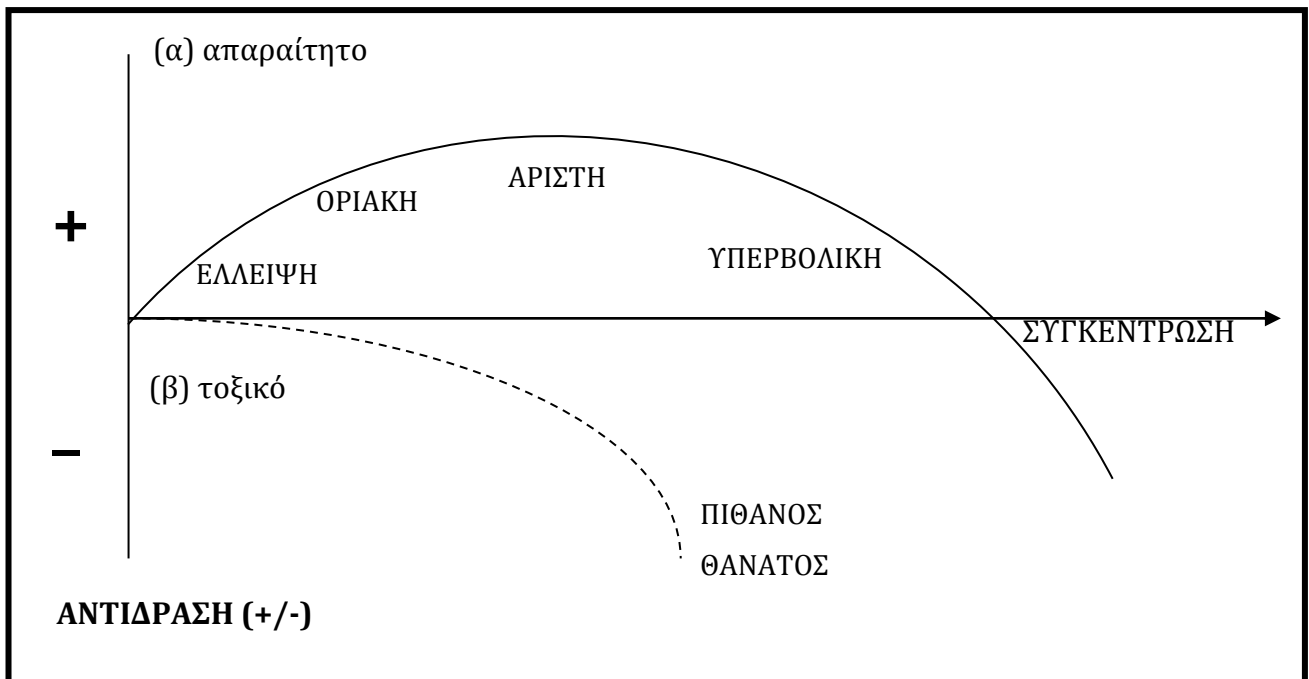
Κεφάλαιο 1. Μέταλλα και τοξικότητα

1.1. Η δράση των μετάλλων στους οργανισμούς

Η συμπεριφορά όλων των ζώντων οργανισμών απέναντι στην πρόσληψη ενός μεταλλικού στοιχείου χωρίζεται σε πέντε βασικές κατηγορίες:

- Το στοιχείο είναι απαραίτητο για τον οργανισμό. Σε αυτή την περίπτωση, το μέταλλο συμμετέχει σε μια μεταβολική αντίδραση του οργανισμού που είναι απαραίτητη για τη βιωσιμότητά του, ενώ η έλλειψη αυτού του στοιχείου οδηγεί σε μια δυσλειτουργία, η οποία αμβλύνεται μόνο όταν στον οργανισμό αποκατασταθεί η συγκέντρωση αυτού του μετάλλου στα επιθυμητά επίπεδα.
- Το στοιχείο δρα διεγερτικά. Σε αυτή την περίπτωση το στοιχείο επιδρά στο κεντρικό νευρικό σύστημα προκαλώντας επιτάχυνση ορισμένων αντιδράσεων.
- Καμιά αλληλεπίδραση. Ορισμένα μέταλλα είναι αδρανή και συνήθως χρησιμοποιούνται και σε ιατρικά εμφυτεύματα, όπως ο χρυσός, ο λευκόχρυσος και ο άργυρος.
- Θεραπευτική δράση. Έχει αποδειχθεί ότι κάποια μέταλλα ή ενώσεις αυτών μπορούν να επιδράσουν θεραπευτικά έναντι ασθενειών, όπως για παράδειγμα ορισμένες ενώσεις του ψευδαργύρου που δρουν θεραπευτικά έναντι των μυκητιάσεων.
- Τοξικότητα. Τα μέταλλα επιδρούν σε ζωτικές δραστηριότητες του οργανισμού, προκαλώντας αρνητικές αντιδράσεις, δυσλειτουργίες, αποσυντονισμό της ομαλής μεταβολικής λειτουργίας και σε κάποιες περιπτώσεις το θάνατο

Ορισμένα μέταλλα μπορούν να δράσουν διαφορετικά ή με πολλούς τρόπους, ανάλογα με τη συγκέντρωσή τους, τη χημική τους μορφή και τη διάρκεια έκθεσης στον οργανισμό. Στο σχήμα 1.1. παρουσιάζεται η βιολογική αντίδραση ενός ιστού σε μια αυξανόμενη συγκέντρωση-δοσολογία δύο μετάλλων- ενός απαραίτητου και ενός τοξικού.



Σχήμα 1.1. Θεωρητικές καμπύλες δόσης-αντίδρασης ενός οργανισμού στη συγκέντρωση (α) ενός απαραίτητου (β) ενός τοξικού μετάλλου. Η παραμετροποίηση των καμπυλών εξαρτάται από το είδος του μετάλλου, τη συγκέντρωση και το είδος του ιστού (Sigel, 1986).

Στην περίπτωση του απαραίτητου μετάλλου η αρχική αντίδραση είναι θετική, ενώ αυξανόμενης της συγκέντρωσης από το αρχικό στάδιο της ανεπάρκειας, ο ιστός φτάνει στο άριστο επίπεδο πρόσληψης. Αν η συγκέντρωση του μετάλλου συνεχίσει να αυξάνεται, τότε αγγίζει τα όρια του κορεσμού και μια ορισμένη ποσότητα του μετάλλου σταματά να απορροφάται από τον οργανισμό. Στη συνέχεια, όταν οι ποσότητες αυτές πλέον συσσωρεύονται, προκαλούν αρνητικές επιδράσεις στον οργανισμό και τα μέταλλα αυτά συμπεριφέρονται ως τοξικά.

Στην περίπτωση ενός τοξικού-μη απαραίτητου μετάλλου δεν υπάρχει θετική αντίδραση του οργανισμού. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις και ανάλογα με το είδος του μετάλλου, μπορεί να μην γίνουν αντιληπτές οι τοξικές επιδράσεις στον οργανισμό. Αυξανόμενης της συγκέντρωσης, μπορεί να επέλθει ακόμη και ο θάνατος του οργανισμού.

1.2. Τα απαραίτητα μέταλλα

Στον πίνακα 1.1. δίνεται ένας κατάλογος των μετάλλων που χαρακτηρίζονται ως απαραίτητα για τον άνθρωπο και τα θηλαστικά. Στη δεύτερη στήλη του πίνακα φαίνεται η ιοντική μορφή των μετάλλων σε ουδέτερο pH, ενώ στην τρίτη στήλη δίνεται η τυπική συγκέντρωση των στοιχείων αυτών στο σώμα ενός ενήλικα. Η τελευταία στήλη δίνει μια ενδεικτική μέση τιμή ημερήσιας πρόσληψης για το κάθε είδος του μεταλλικού στοιχείου. Τα απαραίτητα μέταλλα συμμετέχουν σε μεταβολικές λειτουργίες με διαφόρους τρόπους και μηχανισμούς. Για παράδειγμα, τα αλκάλια (Na και K) συμμετέχουν στην ωσμωτική ισορροπία των κυττάρων, ενώ το μαγνήσιο είναι απαραίτητος ενζυμικός παράγοντας σε όλες τις αντιδράσεις της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP). Παρόλα αυτά, η πρόσληψη ακόμα και των απαραίτητων μετάλλων πρέπει να διατηρείται σε ορισμένα επίπεδα διότι σε υψηλότερες συγκεντρώσεις θα μπορεί να δράσουν τοξικά. Για αυτό το λόγο, όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί έχουν αναπτύξει μια σειρά φυσιολογικών αντιδράσεων και μηχανισμών που ελέγχουν και ρυθμίζουν την πρόσληψη και διαχείριση των μετάλλων, την λεγόμενη ομοιόσταση. Ακόμα και σήμερα, οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί πολλών μετάλλων είναι άγνωστοι και τελούν υπό διερεύνηση (Sigel, 1986).

Πίνακας 1.1. Τα απαραίτητα μεταλλικά στοιχεία (Sigel, 1986).

Μεταλλικό στοιχείο	Ιοντική μορφή (pH 7,0)	Ποσότητα στον ανθρώπινο οργανισμό	Ενδεικτική ημερήσια πρόσληψη
Na	Na ⁺	100 g	1-3 g
K	K ⁺	140 g	2-5 g
Mg	Mg ²⁺	25 g	0,7 g
Ca	Ca ²⁺	1100 g	0,8 g
Cr	Cr(OH) ₂ ⁺	6 mg	0,1 mg
Mo	MoO ₄ ²⁻	9 mg	0,3 mg
Mn	Mn ²⁺	12 mg	4 mg
Fe	Fe ²⁺	4-5 mg	10-20 mg
Co	Co ²⁺	1 mg	3 μg
Zn	Zn ²⁺	2 g	15 mg

1.3. Μέταλλα με τοξική δράση

Ορισμένα μέταλλα δεν έχουν βιολογικό ρόλο, δηλαδή δεν αποτελούν απαραίτητα ανόργανα στοιχεία, ενώ μπορούν να προκαλέσουν δυσμενείς επιπτώσεις στους ζωντανούς οργανισμούς, ακόμη και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (Houlbréque et al., 2011). Τα μέταλλα αυτά μπορούν να λειτουργήσουν με ποικίλους τρόπους, όπως να παρεμποδίσουν τη δράση ενός απαραίτητου στοιχείου του σώματος παρεμβαίνοντας στον μηχανισμό απορρόφησής του από τον οργανισμό ή στη συμμετοχή του σε μια μεταβολική διεργασία. Πολλά μέταλλα, ιδιαίτερα τα ονομαζόμενα «βαρέα μέταλλα» παρουσιάζουν τοξικότητα ακόμα και σε ίχνη, ενώ άλλα μέταλλα μπορεί να είναι απαραίτητα σε χαμηλές συγκεντρώσεις ή σε διαφορετικές χημικές μορφές, και ορισμένα, όπως το βισμούθιο, να έχουν χαμηλή τοξικότητα.

Για να παρουσιάσει ένα μέταλλο τοξική δράση θα πρέπει να ισχύουν δύο προϋποθέσεις. Καταρχάς, το στοιχείο πρέπει να υπάρχει στο περιβάλλον σε επίπεδα που ξεπερνούν κατά πολύ τη φυσική του συγκέντρωση. Η δεύτερη προϋπόθεση αφορά στη φυσικοχημική κατάσταση του μετάλλου στις δεδομένες περιβαλλοντικές συνθήκες. Για παράδειγμα, το αργίλιο μπορεί να υπάρχει με μορφή ιζήματος σε ένα υδάτινο οικοσύστημα, αλλά να μετατραπεί σε τοξικό, μόνο όταν οι περιβαλλοντικές

συνθήκες επιτρέψουν αύξηση της την διαλυτότητάς του. Η τοξικότητα επομένως δεν εξαρτάται μόνο από την απόλυτη συγκέντρωση της ένωσης στο εξεταζόμενο μέσο, αλλά καθοριστικό ρόλο παίζουν και οι φυσικοχημικές συνθήκες που διαμορφώνονται στο περιβάλλον του μετάλλου, όπως η θερμοκρασία, η ενεργός οξύτητα-pH, το ηλεκτρικη δυναμικό και η συγκέντρωση άλλων ουσιών, οργανικών ή ανόργανων (Newman and Unger, 2003).

Η ομάδα των τοξικών μετάλλων αποτελεί μια δυναμική ομάδα, τα μέλη της οποίας μεταβάλλονται ανάλογα με την πρόοδο των τοξικολογικών, επιδημιολογικών και σχετικών ερευνών. Τις περισσότερες φορές στα «τοξικά μέταλλα» περιλαμβάνονται τουλάχιστον το κάδμιο, ο μόλυβδος, ο υδράργυρος και τα ραδιενεργά μέταλλα. Επιπλέον, ορισμένα μεταλλοειδή με αναγνωρισμένη τοξική δράση όπως το αρσενικό μπορούν να συμπεριληφθούν στην ομάδα των τοξικών μετάλλων, ακόμα και αν δεν ανήκουν στα μέταλλα. Στα τοξικά μέταλλα περιλαμβάνονται ακόμα και κάποια απαραίτητα μέταλλα σε μια διαφορετική κατάσταση οξείδωσης: για παράδειγμα, το χρώμιο (III) είναι ένα απαραίτητο ιχνοστοιχείο, αλλά το εξασθενές χρώμιο (VI) θεωρείται καρκινογόνο. Στον πίνακα 1.2. δίνεται ένας κατάλογος μετάλλων που χαρακτηρίζονται ως τοξικά, στον οποία περιλαμβάνονται στοιχεία που μπορούν να προσληφθούν λόγω έκθεσης σε όλες τις πιθανές πηγές.

Πίνακας 1.2. Τα τοξικά μεταλλικά στοιχεία (Sigel, 1986).

Χρώμιο (VI)	Νικέλιο
Γερμάνιο (τετραϋδρίδιο)	Όσμιο (τετροξειδίο, άλλες ενώσεις)
Ίνδιο	Ρόδιο
Άλατα σιδήρου, διαλυτά	Σελήνιο (ορισμένες ενώσεις)
Μόλυβδος (άλατα, οργανικές ενώσεις)	Άργυρος (διαλυτές ενώσεις)
Μαγγάνιο	Τελλούριο
Υδράργυρος	Θάλλιο (διαλυτές ενώσεις)
Μολυβδαίνιο	Κασσίτερος (ανόργανος και οργανικός)
Αντιμόνιο	Βολφράμιο (διαλυτό)
Αρσενικό	Ουράνιο (μεταλλικό και άλλες ενώσεις)

Βάριο (διαλυτές ενώσεις, θειικό άλας)	Υττριο (μέταλλο και ενώσεις)
Βηρύλλιο	Κάδμιο (άλατα)
Βόριο (βορικά άλατα, αλογονίδια)	Ψευδάργυρος (χρωμικά άλατα, οξειδίο)
Ζιρκόνιο	

1.4. Τα «βαρέα» μέταλλα

Τα βαρέα μέταλλα αποτελούν μια από τις σημαντικότερες ομάδες των μετάλλων που απασχολούν τη χημεία και τοξικολογία των τροφίμων. Ο όρος «βαρέα μέταλλα» χρησιμοποιήθηκε στις αρχικές επιστημονικές μελέτες το 1935 πάνω στις αρνητικές επιπτώσεις των μεταλλικών στοιχείων στο περιβάλλον και βασίστηκε στη σύγκριση της πυκνότητας των συγκεκριμένων μετάλλων με την πυκνότητα του σιδήρου. Ως «βαρέα» χαρακτηρίστηκαν τα μέταλλα που έχουν πυκνότητα μεγαλύτερη από 5,0 g/cm³ ή κατά άλλους, ατομική μάζα (ατομικό βάρος) μεγαλύτερη από 40, που είναι η σχετική ατομική μάζα του ασβεστίου. Από την ομάδα αυτή εξαιρέθηκαν τα αλκάλια, οι αλκαλικές γαίες, οι λανθανίδες και οι ακτινίδες (Glanze, 1996).

Σήμερα ο όρος χαρακτηρίζει κυρίως τα μεταλλικά στοιχεία που έχουν ειδικό βάρος τουλάχιστον πέντε φορές μεγαλύτερο από το ειδικό βάρος του νερού και παρουσιάζουν τοξική δράση στους οργανισμούς. Σύμφωνα με αυτό τον ορισμό, στα βαρέα μέταλλα περιλαμβάνονται το αντιμόνιο, αρσενικό, βισμούθιο, κάδμιο, δημήτριο, χρώμιο, κοβάλτιο, χαλκό, γάλλιο, χρυσό, σίδηρο, μόλυβδο, μαγγάνιο, υδράργυρο, νικέλιο, λευκόχρυσο, άργυρο, τελλούριο, θάλλιο, κασσίτερο, ουράνιο, βανάδιο και ψευδάργυρο. Στην ομάδα των βαρέων μετάλλων συμπεριλαμβάνονται και στοιχεία που δεν ικανοποιούν τον χημικό ορισμό της πυκνότητας, αλλά έχουν τοξική επίδραση στους οργανισμούς, όπως είναι τα ελαφρύτερα μέταλλα αργίλιο και λίθιο και κάποια μεταλλοειδή, όπως το αντιμόνιο, το αρσενικό και το σελήνιο (Glanze, 1996).

Σχετικά με τη χρήση του ορισμού «βαρέα μέταλλα», αυτή αποτελεί ακόμα και σήμερα αντικείμενο διαφωνίας ως προς την κατηγοριοποίηση των μετάλλων που ανήκουν σε αυτή, και αυτό γιατί από το 1935 μέχρι και σήμερα έχουν γίνει πολλές αλλαγές ως προς τον ορισμό του όρου χρησιμοποιώντας διαφορετικά κριτήρια, όπως είναι η πυκνότητα και η ατομική μάζα τους. Παρόλα αυτά, ο όρος χρησιμοποιείται ευρέως και σήμερα και αναφέρεται κυρίως στο αρσενικό (As), κάδμιο (Cd), υδράργυρο

(Hg), μόλυβδο (Pb), και τον ανόργανο κασσίτερο (Sn), τα οποία είναι τα πιο τοξικά μέταλλα που ευθύνονται για τις περισσότερες περιπτώσεις δηλητηρίασης και η παρουσία τους στα τρόφιμα ή στο πόσιμο νερό περιορίζεται διεθνώς από νομοθετικά όρια.

Τα βαρέα μέταλλα, συνιστούν μαζί με τις ραδιενεργές ενώσεις και τους οργανικούς ρύπους τις τρεις κύριες ομάδες ρύπων στο περιβάλλον. Τα βαρέα μέταλλα, αντίθετα με τους οργανικούς ρύπους, δε συντίθενται *de novo*, αλλά συσσωρεύονται στο περιβάλλον μέσω διαφόρων ανθρωπογενών διεργασιών, όπως η εξόρυξη και επεξεργασία ορυκτών, η καύση πρώτων υλών και η απελευθέρωση βιομηχανικών και μεταφορικών ρύπων. Η εναπόθεση των απορριμμάτων συνιστά επίσης σημαντική πηγή ρύπανσης του περιβάλλοντος με βαρέα μέταλλα. Όλες αυτές οι δραστηριότητες είναι σε πολλές περιπτώσεις υπεύθυνες για την επιβάρυνση του περιβάλλοντος με ποικίλες μορφές βαρέων μετάλλων (Sigel, 1986).

Τα βαρέα μέταλλα έχουν πολλές αρνητικές επιπτώσεις στο μεταβολισμό των οργανισμών. Παρεμβαίνουν στις βιοχημικές τους λειτουργίες με ποικίλους τρόπους, συμμετέχοντας στις μεταβολικές διαδικασίες και επηρεάζοντας τη φυσιολογία τους. Βιοχημικά, ο κύριος μηχανισμός της τοξικότητάς των βαρέων μετάλλων προκύπτει κυρίως από την ισχυρή συγγένεια με το στοιχείο του θείου, που έχει ως αποτέλεσμα τη δέσμευσή τους από τις σουλφυδρυλικές ομάδες (-SH) των ένζυμων και άλλων βιολογικών μακρομόριων. Ανάλογα με τη συγγένειά τους προς τις σουλφυδρυλομάδες, ταξινομούνται κατά την εξής φθίνουσα σειρά: HgII>CuI>CdII>PbII>>CuII>ZnII. Η αλληλεπίδραση των τοξικών μετάλλων με βιοχημικά σημαντικά μακρομόρια επιφέρει αλλαγές στη δομή τους και τελικά επηρεάζει τη φυσιολογία ολόκληρου του κυττάρου (Viarengo and Nott, 1993).

1.5. Τοξικότητα και οργανισμοί

Στον πίνακα 1.3. δίνεται η σειρά τοξικότητας των μετάλλων σε διάφορες ομάδες οργανισμών. Για κάθε είδος οργανισμού, η σειρά των μετάλλων απεικονίζει τη ποσότητα του κάθε μετάλλου που απαιτείται για να προκαλέσει τοξικό αποτέλεσμα, με τη μικρότερη ποσότητα που απαιτείται να σχετίζεται με το πιο τοξικό μέταλλο. Όπως φαίνεται και στον πίνακα, υπάρχει σημαντική ομοιότητα στη σειρά τοξικότητας των οργανισμών, ακόμα και για ομάδες με σημαντικές διαφορές, όπως είναι οι μύκητες και

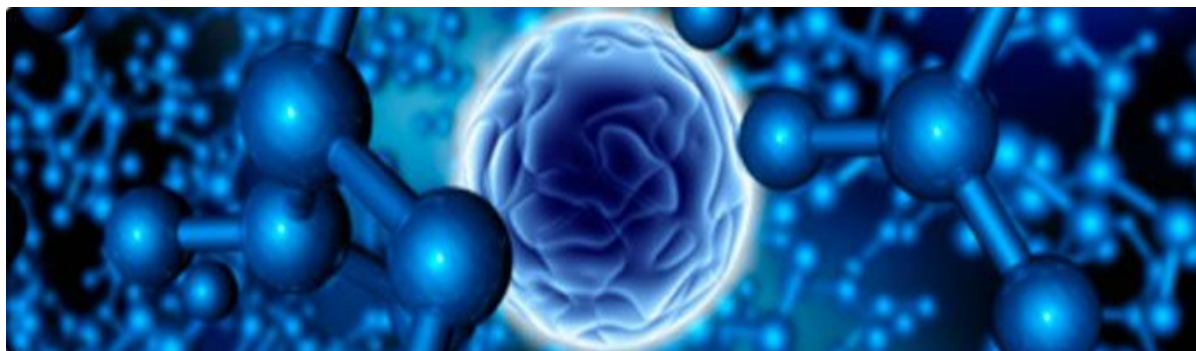
τα ψάρια. Γενικά, παρατηρείται ότι τα μαλακά μέταλλα είναι πιο τοξικά από τα ενδιάμεσα μέταλλα, τα οποία με τη σειρά τους είναι πιο τοξικά από τα υπόλοιπα μέταλλα (κατά Pearson διαχωρισμός: τα σκληρά προέρχονται από άτομα μικρού ατομικού αριθμού και μικρή επιδεκτικότητα πόλωσης, ενώ τα μαλακά από άτομα μεγάλου ατομικού αριθμού και μεγάλη επιδεκτικότητα πόλωσης που συνήθως περιέχουν d ηλεκτρόνια). Αυτό εξηγείται από τη μεγαλύτερη ικανότητα των μαλακών μετάλλων να σχηματίζουν ομοιοπολικούς δεσμούς και ισχυρά σύμπλοκα με τα βιολογικά μόρια (Nieboer and Richardson, 1980).

Πίνακας 1.3. Σειρά τοξικότητας των μετάλλων σε οργανισμούς (Nieboer and Richardson, 1980).

Οργανισμοί	Τοξική ακολουθία
Άλγη	Hg>Cu>Cd>Fe>Cr>Zn>Pb>Co>Mn
Μύκητες	Ag>Hg>Cu>Cd>Cr>Ni>Pb>Co>Zn>Fe
Φυτά ανθοφόρα	Hg>Pb>Cu>Cd>Cr>Ni>Zn
Ασπόνδυλα	Hg>Cu>Zn>Pb>Cd
Ψάρια	Ag>Hg>Cu>Pb>Cd>Al>Zn>Ni>Cr>Co>Mn>>Sr
Θηλαστικά	Ag, Hg, Cd>Cu, Pb, Co, Sn, Be>>Mn, Zn, Ni, Fe, Cr>>Sr>Cs, Li, Al

Οι χημικές ιδιότητες δεν αποτελούν βέβαια αποκλειστικό παράγοντα καθορισμού του βαθμού τοξικότητας ενός μετάλλου. Η δράση των τοξικών μετάλλων εκδηλώνεται με μια σειρά πολύπλοκων διεργασιών, αλληλεπιδράσεων, αντιδράσεων και αλλαγών. Για το λόγο αυτό, οι χημικές ιδιότητες του μετάλλου δεν αποτελούν τον καθοριστικό παράγοντα τοξικότητας. Ιδιαίτερα σε *in vivo* συνθήκες, η μελέτη των μεταβολών που επιφέρει η έκθεση σε ένα τοξικό μέταλλο, μπορεί να είναι αρκετά πολύπλοκη, ιδιαίτερα σε σύνθετους οργανισμούς όπως τα θηλαστικά. Έτσι, η εκτίμηση ότι οι επιδράσεις των βαρέων μετάλλων στους ζωντανούς οργανισμούς μπορούν να προβλεφθούν μόνο από τη χημική τους δομή, είναι ανεπαρκής. Η πρόθεση να χρησιμοποιήσει κάποιος τις χημικές ιδιότητες των μετάλλων για να προβλέψει την τοξικότητά τους σε ζωντανά κύτταρα είναι μια καλή βάση, χωρίς όμως να είναι δυνατή για οποιαδήποτε ολοκληρωμένη πρόβλεψη σχετικά με τη σοβαρότητα ή το βαθμό

τοξικότητας. Σήμερα, έχει βρεθεί ότι τα βαρέα μέταλλα προκαλούν τόσο άμεσες αντιδράσεις stress (όπως για παράδειγμα η παραγωγή πεπτιδίων- phytochelatins από το σύμπλεγμα βαρέων μετάλλων και της γλουταθειόνης), όσο και έμμεσες αντιδράσεις- stress για την αντιμετώπιση των αρνητικών επιπτώσεων των βαρέων μετάλλων κατά την έκθεση στους τοξικούς ρύπους (Arpenroth, 2010).



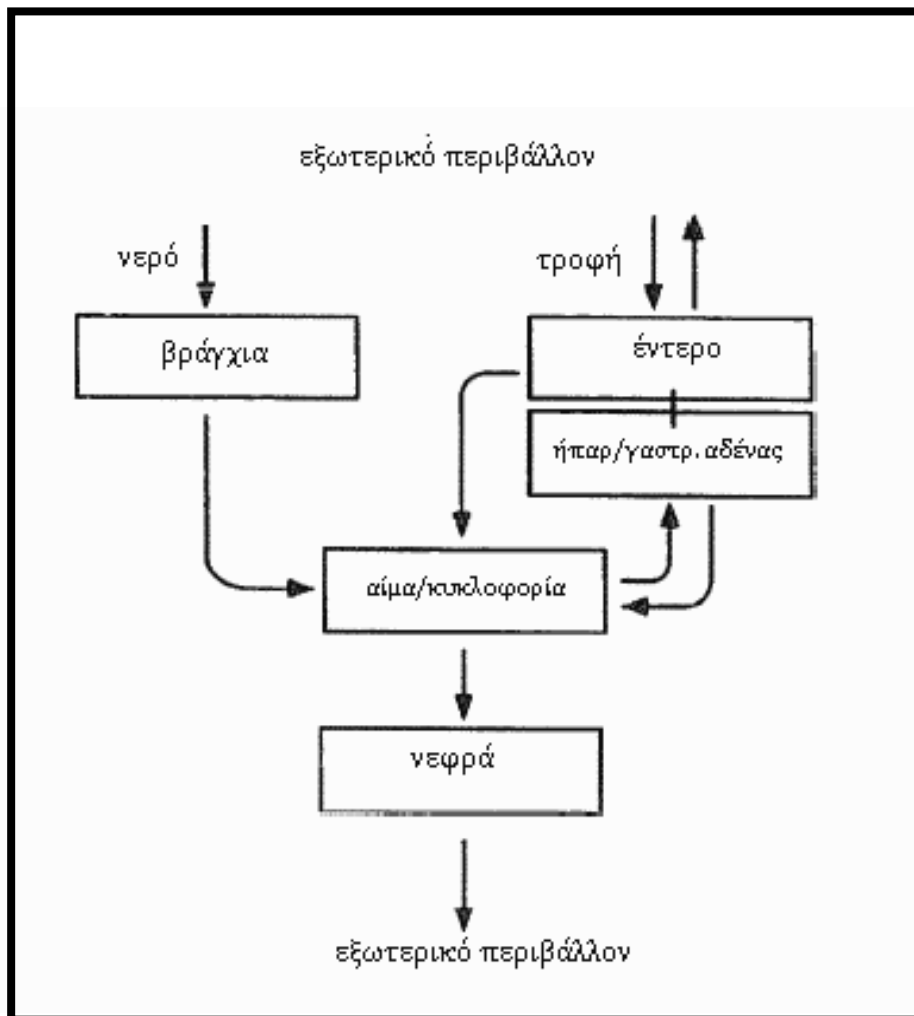
Κεφάλαιο 2. Πρόσληψη και μεταβολισμός

2.1. Πρόσληψη

Όταν κάποιος θέλει να εκτιμήσει τις αρνητικές επιπτώσεις ενός μετάλλου στον οργανισμό θα πρέπει πρώτα να κατανοήσει τους μηχανισμούς πρόσληψης του συγκεκριμένου μετάλλου από τον οργανισμό που εξετάζεται. Ο άνθρωπος και τα ζώα της ξηράς απορροφούν τα μέταλλα κυρίως από την τροφή, τον ατμοσφαιρικό αέρα και κάποιες φορές από την επιφάνεια του σώματός τους, ενώ οι οργανισμοί που ζουν στο υδάτινο περιβάλλον απορροφούν τα μέταλλα από το νερό διαμέσου του επιθηλίου στα βράγχια, του εντερικού σωλήνα και της εξωτερικής επιφάνειας, ενώ σημαντικό ρόλο στην πρόσληψη παίζει και η διατροφή τους. Ανάλογα με το είδος του οργανισμού μπορεί να κυριαρχεί μια οδός πρόσληψης. Το πλαγκτόν και κάποια είδη που τρέφονται από τη διήθηση του νερού προσλαμβάνουν τα μέταλλα αποκλειστικά από το νερό, ενώ στα σαρκοφάγα είδη, η τροφή παραμένει η αποκλειστική οδός πρόσληψης των διαφόρων ρύπων. Η σύνδεση της τροφικής αλυσίδας με τη βιοσυσσώρευση των βαρέων μετάλλων στα ψάρια έχει αποδειχθεί ερευνητικά κυρίως για τον υδράργυρο (Burger et al., 2001; Storelli et al., 2010).

Στο σχήμα 2.1. απεικονίζεται ένα απλοποιημένο μοντέλο των οδών εισόδου και διανομής των μετάλλων σε αλιεύματα. Η πρόσληψη των μετάλλων γίνεται μέσω δύο κύριων οδών. Η πρώτη αφορά στα βράγχια για τα μέταλλα που βρίσκονται διαλυμένα στο νερό και η δεύτερη αφορά στην τροφή, όπου τα μέταλλα είναι δεσμευμένα στο υλικό που καταπίνεται (τροφή και άλλα σωματίδια). Οι μεταβολικοί δρόμοι της πρόσληψης εξαρτώνται άμεσα από τις μοριακές ιδιότητες των μετάλλων και των

ενώσεών τους. Οι λιπόφιλες ενώσεις και τα συσσωματώματα ή οι οργανικές ενώσεις των μετάλλων μπορούν και διαχέονται ελεύθερα μέσω των βιολογικών μεμβρανών, ενώ αντίθετα τα μεταλλικά ελεύθερα ιόντα και οι υδρόφιλες μεταλλικές ενώσεις χρησιμοποιούν άλλους μηχανισμούς για να διέλθουν από τις κυτταρικές μεμβράνες (Roesijadi, 1992).



Σχήμα 2.1. Απλοποιημένο μοντέλο πρόσληψης, διακίνησης και αποβολής των μετάλλων σε αλιεύματα. Τα διαλυμένα στο νερό μέταλλα εισέρχονται από τα βράγχια, ενώ τα συνδεδεμένα με τη τροφή από τον εντερικό σωλήνα. Σε μερικά είδη ο γαστρεντερικός αδένας παίζει και το ρόλο του ήπατος και έτσι αποτελεί και αποθηκευτικό χώρο για τα μέταλλα. Η αποβολή των μετάλλων γίνεται διαμέσου της νεφρικής οδού (Roesijadi, 1992).

Ορισμένες ενώσεις μετάλλων μπορούν να προσληφθούν από τον μηχανισμό της ενδοκύττωσης, όπως το υδροξείδιο του σιδήρου $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ή με διάχυση, όπως ο διμεθυλοϋδράργυρος $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$, ενώ άλλα μέταλλα περνούν με ενεργοποιημένη (activated) διάχυση μέσω πρωτεϊνών μεταφοράς ή με ενεργό διάχυση μέσω κατιονικών αντλιών που εξαρτώνται από τη συγκέντρωση ATP. Οι συνηθέστερες οδοί πρόσληψης θεωρούνται οι αντλίες ιόντων και η είσοδος με πρωτεΐνες μεταφοράς (Rainbow, 1997).

Για την είσοδο διαμέσου των παραπάνω οδών, τα βαρέα μέταλλα εκμεταλλεύονται τα κοινά χημικά χαρακτηριστικά τους με τα απαραίτητα μέταλλα. Στοιχεία, όπως ο μόλυβδος, το κάδμιο, το μαγγάνιο και το κοβάλτιο έχουν παρόμοιες ιοντικές διαμέτρους με απαραίτητα μέταλλα και έτσι μπορούν και διεισδύουν χρησιμοποιώντας τις εισόδους των απαραίτητων μεταλλικών στοιχείων. Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η αντλία ασβεστίου. Η αντλία χρησιμοποιείται για την είσοδο του ασβεστίου στον οργανισμό, εξάγοντας ταυτόχρονα άλλα μεταλλικά ιόντα, όπως το νάτριο, το κάδμιο και το μαγνήσιο. Η λειτουργία της αντλίας βασίζεται σε ένα πρωτεϊνικό κανάλι, το οποίο είναι εξειδικευμένο για τη μεταφορά του ασβεστίου. Το ιόν του καδμίου έχει ιοντική ακτίνα $0,99\text{\AA}$ που είναι σχεδόν ίδια με την ιοντική ακτίνα του ασβεστίου $0,9\text{\AA}$, με αποτέλεσμα να χρησιμοποιεί την αντλία του ασβεστίου για την είσοδο στον οργανισμό. Εκτός από τις αντλίες, κάποια μέταλλα όπως το κάδμιο μπορούν και προσλαμβάνονται ως ενυδατωμένα ιόντα, ενώ άλλες ενώσεις παρουσιάζουν αυξημένη λιποφιλικότητα με αποτέλεσμα να περνούν με άμεση διάχυση (όπως το CdCl_2 , ο HgCl_2 και ο $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$) (Wang and Fisher, 1999).

Ο μηχανισμός της πρόσληψης επηρεάζεται από ένα σύνολο παραγόντων που χωρίζονται σε τρεις διαφορετικές κατηγορίες:

- χημικοί παράγοντες (χημική μορφή, συνοδευτικές ουσίες, οξειδωτική κατάσταση, ρυθμός έκθεσης)
- φυσικοί παράγοντες (φως, θερμοκρασία, ρεύματα νερού, pH, σκληρότητα νερού, διαλυμένο οξυγόνο)
- βιολογικοί παράγοντες (μέγεθος του οργανισμού, στάδιο ανάπτυξης, διατροφή, εγκλιματισμός, κλινική κατάσταση).

Οι παράγοντες αυτοί μπορούν να παίξουν καθοριστικό ρόλο στη βιοδιαθεσιμότητα του μετάλλου και άρα στην τοξική επίπτωσή του στον οργανισμό. Για παράδειγμα η αυξημένη σκληρότητα του νερού μειώνει την τοξικότητα των μετάλλων λόγω του ανταγωνισμού μεταξύ των μεταλλικών ιόντων. Έτσι στις μελέτες της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη όλοι οι παράγοντες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την πρόσληψη του ρύπου στον οργανισμό (Depledge and Rainbow, 1990).

2.2. Μεταφορά και Αποθήκευση

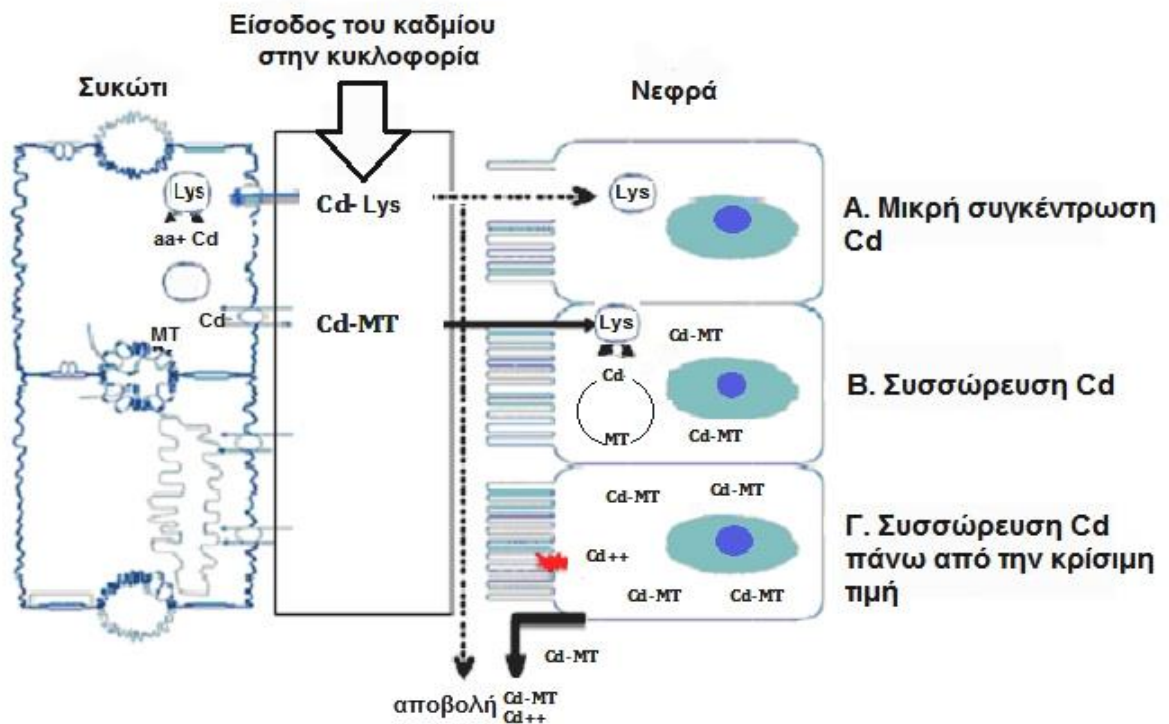
Οι μηχανισμοί μεταφοράς των μετάλλων ποικίλουν ανάλογα με το είδος του οργανισμού. Για παράδειγμα, σε κατώτερα είδη όπως ασπόνδυλα και μαλάκια το ανοιχτό κυκλοφορικό σύστημα (αποκαλούμενο hemolymph) αποτελεί το κύριο μέσο μεταφοράς των μετάλλων στους ιστούς (Schuwerack et al., 2009). Στον ανθρώπινο οργανισμό, η κύρια πύλη εισόδου και μέσου διακίνησης των βαρέων μετάλλων είναι το γαστρεντερικό σύστημα, εκτός από ειδικές πληθυσμιακές ομάδες που εισπνέουν μεγάλες ποσότητες καδμίου από βιομηχανικές διεργασίες. Σχετικά με την είσοδο από το γαστρεντερικό σύστημα, ένα μικρό μόνο ποσοστό της συνολικής ποσότητας των βαρέων μετάλλων εισέρχεται τελικά στον ανθρώπινο οργανισμό. Για το κάδμιο, το ποσοστό αυτό κυμαίνεται από 1 ως 8%, με συνηθέστερα 3 ως 5%. Αυξημένες περιπτώσεις πρόσληψης καδμίου έχουν παρατηρηθεί σε ορισμένες ομάδες ανθρώπων, όπως σε περιπτώσεις σιδηροπενικής αναιμίας, σε βρέφη και σε νεαρές γυναίκες. Το ποσοστό πρόσληψης μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες, όπως τη χημική μορφή του μετάλλου (π.χ. ανόργανη ή οργανική), τη συμπλοκοποίησή του με άλλες ενώσεις, την εφαρμοζόμενη δόση, τη διάρκεια της έκθεσης και τη συγκέντρωση άλλων ουσιών, όπως οι πρωτεΐνες, τα λίπη και τα άλλα μέταλλα (EFSA, 2009).

Τα μέταλλα μπαίνουν στην κυκλοφορία του αίματος από το γαστρεντερικό σύστημα. Εκεί συνδέονται με μεταφορικές πρωτεΐνες, όπως είναι η τρανσφερίνη ή με άλλα είδη πρωτεϊνών, όπως η αλβουμίνη και οι μεταλλοθειονίνες. Η σύνδεση των βαρέων μετάλλων με μακρομόρια που εξειδικεύονται στη μεταφορά ιόντων, όπως τις πρωτεΐνες αιμοκυανίνη και τρανσφερίνη μπορεί να επιφέρει αλλαγές στη δομή και λειτουργία τους. Το κάδμιο για παράδειγμα μπορεί να αντικαταστήσει απαραίτητα μέταλλα στις πρωτεΐνες μεταφοράς, προκαλώντας την αποβολή τους στο

κυτταρόπλασμα και διεγείροντας αλυσιδωτές διαταραχές στον εγκέφαλο και το νευρικό σύστημα (Schuwerack et al., 2009).

Το πώς ακριβώς τα μέταλλα φτάνουν από την κυκλοφορία στους ιστούς δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, πιστεύεται όμως ότι η παθητική και η ενεργητική μεταφορά αποτελούν βασικούς μηχανισμούς για την είσοδο των μετάλλων στο κυτταρόπλασμα (Schuwerack et al., 2009). Μια σχηματική παρουσίαση μεταφοράς και αποθήκευσης του καδμίου στον ανθρώπινο οργανισμό δίνεται στο σχήμα 2.2. Το κάδμιο από την κυκλοφορία του αίματος συνδεδεμένο με την αλβουμίνη λαμβάνεται από το συκώτι. Εκεί δεσμεύεται από το γλουταθείο (GSH) ή τις μεταλλοθειονίνες (MT). Τελικώς τα σύμπλοκα Cd-GSH και Cd-MT εισέρχονται στα νεφρικά κύτταρα. Σε αυτό το σημείο τα σύμπλοκα αποικοδομούνται και τα ιόντα καδμίου Cd^{2+} ελευθερώνονται. Τα ελεύθερα ιόντα επάγουν την παραγωγή νέων μεταλλοθειονινών. Υπάρχει μια κρίσιμη συγκέντρωση καδμίου πάνω από την οποία δε μπορούν να παραχθούν αρκετές ποσότητες μεταλλοθειονινών για να δεσμεύσουν το κάδμιο. Όταν συμβεί αυτό, επέρχεται και η καταστροφή των νεφρικών κυττάρων που οδηγεί σε ενζυμοουρία, πρωτεϊνουρία και αυξημένη αποβολή καδμίου στα ούρα είτε σε ελεύθερη μορφή, είτε δεσμευμένο με μεταλλοθειονίνες (EFSA, 2009).

Στα διαφορετικά είδη οργανισμών υπάρχουν συγκεκριμένοι μηχανισμοί ρύθμισης της συγκέντρωσης του κάθε μεταλλικού στοιχείου που πολλές φορές αποδεικνύονται ιδιαίτερα αποτελεσματικοί. Κατά συνέπεια πολλά είδη, όπως τα κεφαλόποδα επιζούν με μεγάλες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στο σώμα τους. Ο τρόπος δράσης αποτελεί την άμυνα του κάθε οργανισμού με βασικό στόχο τη διατήρηση των τοξικών μετάλλων σε ανενεργή κατάσταση, έτσι ώστε να μην προκαλούν διαταραχές στις μεταβολικές διεργασίες (Depledge and Rainbow, 1990).



Σχήμα 2.2. Μηχανισμός μεταφοράς και αποθήκευσης του καδμίου στον ανθρώπινο οργανισμό. Μετά από μια κρίσιμη συγκέντρωση, τα νεφρικά κύτταρα δεν μπορούν να συνθέσουν νέες μεταλλοθειονίνες (MT) και ξεκινούν τα συμπτώματα τοξικότητας (περίπτωση Γ) (EFSA, 2009).

Οι κυριότεροι μηχανισμοί αποθήκευσης που έχουν καταγραφεί μέχρι σήμερα για τα τοξικά μέταλλα δίνονται παρακάτω, ανάλογα με τη χημική μορφή τους:

- ▶ Ελεύθερα ή δεσμευμένα με άλλα ιόντα, όπως ένυδρα συμπλέγματα με χλωρικά, φωσφορικά, ή ανθρακικά ιόντα και σύμπλοκα με αμινοξέα, υδατάνθρακες κ.α.
- ▶ Δεσμευμένα στα ενεργά κέντρα πεπτιδίων μικρού μοριακού βάρους ή λειτουργικές πρωτεΐνες, όπως η αιμοσφαιρίνη, η αιμοκυανίνη κ.ά.
- ▶ Δεσμευμένα σε μεταφορικές πρωτεΐνες ή πρωτεΐνες αποβολής: μεταλλοθειονίνες, φεριτίνη, τρανσφερίνη.
- ▶ Αποθηκευμένα σε κυτταρικά οργανίδια
- ▶ Αποθηκευμένα σε κυτταρικούς ιστούς, όπως τρίχες, συνδετικό ιστό, φτερά κ.α.
- ▶ Δεσμευμένα σε άλλα κυτταρικά συστατικά, όπως ένζυμα, DNA, κ.α.

Οι μηχανισμοί αποθήκευσης βοηθούν στην επιβίωση κάποιων ειδών σε περιοχές με υψηλό ποσοστό ρύπανσης, ενώ σε αρκετές από αυτές τις περιπτώσεις το γαστρεντερικό σύστημα παίζει τον σημαντικότερο ρόλο στην επιβίωση των ειδών, διότι έχει κυτταρικές δομές που αποθηκεύουν μεγάλες συγκεντρώσεις μετάλλων. Τα κοκκίδια επίσης συναντώνται σε έναν μεγάλο αριθμό ειδών που επιβιώνουν σε υψηλές συγκεντρώσεις τοξικών μετάλλων (δίθυρα μαλάκια, οστρακοειδή κ.α.) (Nordberg et al., 2007).

Στα ασπόνδυλα, στα οποία ανήκουν το καλαμάρι, το χταπόδι, η σουπιά, οι γαρίδες και άλλα εμπορικά είδη θαλασσινών το σημαντικότερο ρόλο στην ομοίωση των βαρέων μετάλλων παίζουν οι μεταλλοθειονίνες, οι οποίες λειτουργούν ως μέσο αποθήκευσης των μεταλλικών ιόντων. Αξιόλογος είναι και ο ρόλος των λυσοσωμάτων, τα οποία συνιστούν κυτταρικά οργανίδια που δεσμεύουν τα μέταλλα σχηματίζοντας δεσμούς με την περιεχόμενη ουσία λιποφουξίνη και στη συνέχεια τα αποβάλλουν από τα κύτταρα. Η συνεισφορά των λυσοσωμάτων είναι ιδιαίτερα σημαντική σε ορισμένα είδη θαλάσσιων ασπόνδυλων, όπου τα λυσοσώματα συσσωρεύουν υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων (Viarengo and Nott, 1993). Εκτός από τις μεταλλοθειονίνες και τα λυσοσώματα, σημαντικό ρόλο στην αποτοξίνωση των τοξικών μετάλλων παίζουν και τα κυτταροπλασματικά κοκκίδια. Τα κοκκίδια συνιστούν μορφές συσσώρευσης μεταλλικών ιόντων, τα οποία μπορούν να απομακρυνθούν με τον μηχανισμό της εξωκύττωσης (απελευθέρωση διαμέσου της πλασματικής μεμβράνης), είτε με τη λύση ολόκληρου του κυττάρου. Τα κοκκίδια έχουν εντοπιστεί ως μηχανισμοί αποτοξίνωσης διαφόρων ιόντων όπως τα μέταλλα Mg, Mn, Zn, Cu, Fe, Co και Ni (Viarengo and Nott, 1993).

2.3. Αποβολή

Οι σημαντικότερες οδοί αποβολής των μετάλλων από το σώμα είναι το γαστρεντερικό σύστημα και τα νεφρά. Στο γαστρεντερικό σύστημα αποβάλλονται με τα χολικά ή παγκρεατικά υγρά και από το επιθήλιο του εντέρου. Οι περισσότερες οργανομεταλλικές ενώσεις απομακρύνονται με τα χολικά υγρά, ενώ αντίθετα οι ανόργανες ενώσεις από το εντερικό επιθήλιο. Ανάλογα με το είδος του οργανισμού παρατηρούνται και ποσοτικές διαφορές ανάμεσα στους μηχανισμούς αποβολής. Τα

μέταλλα που εισέρχονται στη χολή μπορούν να επαναρροφηθούν στο εντερικό σύστημα και να επιστρέψουν στη χολή. Η εντερική επαναπορρόφηση μπορεί να αποφευχθεί, εφόσον τα μέταλλα συνδεθούν με ουσίες μη απορροφήσιμες. Έτσι τα μέταλλα μπορούν να αποβληθούν από τον οργανισμό. (Roesijadi, 1992).

Ένας διαφορετικός μηχανισμός απομάκρυνσης αφορά την αποβολή των μετάλλων μαζί με τα νεκρά κύτταρα, λόγω της κυτταρικής ανανέωσης των ιστών. Με αυτό τον τρόπο απομακρύνονται σχετικά μικρές ποσότητες από ανόργανες ενώσεις βαρέων μετάλλων. Η απομάκρυνση με τα ούρα είναι ο δεύτερος πιο σημαντικός μηχανισμός αποβολής για τα ζώα και τον άνθρωπο. Τα μέταλλα δεσμευμένα με ενώσεις μικρού μοριακού βάρους που βρίσκονται στο πλάσμα του αίματος, φιλτράρονται από τα νεφρά και απομακρύνονται. Αυτός ο μηχανισμός συνδέεται με την απομάκρυνση του καδμίου με τις μεταλλοθειονίνες, αν και δεν αποβάλλεται όλη η ποσότητα τους, καθώς ένα ποσοστό επαναπορροφάται από τον οργανισμό (Roesijadi, 1992).

Στον πίνακα 2.1. δίνονται οι χρόνοι ημιζωής των βαρέων μετάλλων Cd, Pb και Hg, σε διάφορα είδη οργανισμών. Ο χρόνος αυτός δηλώνει τη διάρκεια που απαιτείται για τη μείωση της συγκέντρωσης του μετάλλου κατά το ήμισυ. Οι χρόνοι ποικίλουν ανάλογα με το μέταλλο, το είδος του οργανισμού και το σημείο αποθήκευσης. ο χρόνος ημιζωής για τον μόλυβδο μπορεί να φτάσει και τα 20 χρόνια, όταν αποθηκεύεται στα οστά. Ο υδράργυρος έχει σχετικά μικρό χρόνο ημιζωής (12-1000 ημέρες). Οι διαφορές στο χρόνο ημιζωής δίνουν μια εξήγηση για τις διαφορές στη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στους διαφορετικούς ιστούς, για παράδειγμα στη σάρκα και στα οστά (AMAP, 1998).

Πίνακας 2.1. Βιολογικός χρόνος ημιζωής για τα βαρέα μέταλλα Cd, Pb, Hg σε διάφορα είδη οργανισμών και ιστούς (AMAP, 1998).

Μέταλλο	Οργανισμός/ιστός	Χρόνος ημιζωής
Cd	- Μαλάκια	Μικρή έως καθόλου απέκκριση
	- Ιστός ψαριού	24-63 ημέρες
	- Άνθρωπος	
	Συκώτι	5-15 χρόνια
	Νεφρό	10-30 χρόνια
Pb	- Μύδι	3-4 ημέρες (τριμέθυλο/αιθυλο-μόλυβδος)
	- Ιστός ψαριού	>41 ημέρες (τριμέθυλο/αιθυλο-μόλυβδος)
	- Άνθρωπος	
	Μαλακός ιστός	40 ημέρες
	Οστά	20 χρόνια
Hg	- Μύδι	53-293 ημέρες
	- Ψάρι	61 ημέρες (ανόργανος από τροφή) 323 ημέρες (οργανικός από τροφή)
	- Άνθρωπος	
	Νεφρό	64 ημέρες
	Εγκέφαλος	19-26 ημέρες
	Μαλλιά	έως 120 ημέρες



Κεφάλαιο 3. Κάδμιο

3.1. Χημεία και γενικά χαρακτηριστικά

Το κάδμιο είναι ένα μεταλλικό στοιχείο που ανήκει στην ομάδα II B του περιοδικού πίνακα και αποτελεί ένα μαλακό αργυρώδες-λευκό μέταλλο. Έχει ατομικό αριθμό 48 και ατομικό βάρος 112,4. Εμφανίζει υψηλή πυκνότητα 8,6 g/L, σημείο τήξης στους 320,9°C και σημείο ζέσης στους 765°C. Στη φύση εντοπίζονται 8 διαφορετικά ισότοπα του καδμίου, ενώ μπορεί να σχηματίσει μια πληθώρα ανόργανων ενώσεων και πολλά διαφορετικά άλατα. Στις συνηθέστερες ενώσεις συγκαταλέγονται το θειϊκό και το χλωριούχο κάδμιο που είναι και αρκετά διαλυτές στο νερό, ενώ το στοιχειακό κάδμιο, το οξειδίο του καδμίου και το θειώδες κάδμιο είναι σχεδόν αδιάλυτα. Το κάδμιο σχηματίζει και οργανικά σύμπλοκα με διάφορες ενώσεις όπως τα θειοκαρβαμιδικά και αυτή η ιδιότητα του μετάλλου αξιοποιείται σε διάφορες αναλυτικές μεθόδους. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχει κάποια μεταβολική δραστηριότητα ζώου ή φυτού που να συνδέεται με την ύπαρξη του καδμίου και συνεπώς δεν είναι απαραίτητο για τη λειτουργία κανενός οργανισμού (Nordberg et al., 2007).

Το κάδμιο είναι διασπαρμένο σε μεγάλη έκταση στον πυρήνα της γης. Το μεταλλικό κάδμιο βρίσκεται από μόνο του σπάνια στη φύση και για αυτό δεν υπάρχουν ορυχεία αποκλειστικής εξόρυξης καδμίου. Η ένωσή του με άλλα στοιχεία δίνει πληθώρα σύνθετων ορυκτών εμπορικής σημασίας, όπως αυτό με τον ψευδάργυρο, τον χαλκό και το μόλυβδο. Η χημική συμπεριφορά του καδμίου επηρεάζει

άμεσα και τη βιοδιαθεσιμότητά του. Το στοιχειακό κάδμιο και το CdO δείχνουν μικρή κινητικότητα και επομένως είναι λιγότερο επιβλαβή στο περιβάλλον από τα κατιόντα καδμίου (Cd^{2+}), τα οποία είναι περισσότερο διαλυτά και παρουσιάζουν μεγαλύτερη βιοδιαθεσιμότητα. Η διαλυτότητα του καδμίου αυξάνεται σημαντικά σε όξινες συνθήκες, οπότε είναι ευκολότερα διαθέσιμο στα φυτά και το περιβάλλον (UNEP, 2010).

3.2. Ιστορική αναδρομή

Το κάδμιο ως στοιχείο ανακαλύφθηκε από το Γερμανό χημικό F. Strohmeier το 1817. Οι προγενέστερες αναφορές για τις τοξικές επιπτώσεις του καδμίου στην κλινική ιατρική έγιναν μετά τα μέσα του 19^{ου} αιώνα. Τα πρώτα συμπτώματα που καταγράφηκαν ήταν αναπνευστικές και γαστρεντερικές διαταραχές σε άτομα που χρησιμοποιούσαν ανθρακικό κάδμιο ως μέσο στίλβωσης. Στις αρχές του 20^{ου} αιώνα γνωστοποιούνται οι πρώτες δηλητηριάσεις καδμίου σε εργάτες εργοστασίων διαχείρισης μεταλλευμάτων, ενώ ξεκινούν τα πρώτα κλινικά πειράματα σε ζώα που αποδεικνύουν σοβαρές λειτουργικές και μορφολογικές αλλοιώσεις στους πνεύμονες, το συκώτι και τα νεφρά μετά από έκθεση σε ενώσεις καδμίου. Αργότερα και μετά από παρατηρήσεις σε εργάτες γίνεται η σύνδεση της ασθένειας οστεομαλακία με την έκθεση του ανθρώπινου οργανισμού στο μέταλλο. Περί τα μέσα του 20^{ου} αιώνα καταγράφονται και άλλες ασθένειες που αποδεικνύουν την τοξικότητα του καδμίου, όπως είναι η πρωτεϊνουρία (Nordberg, 2009).

Μετά το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο καταγράφεται στην πόλη Fuchu της Ιαπωνίας, η περίφημη ασθένεια Itai-Itai που ονομάστηκε έτσι λόγω των σοβαρών σωματικών πόνων και καταγμάτων των σκελετικών οστών των ασθενών. Η ασθένεια έχει κλινικά συμπτώματα παρόμοια της οστεομαλακίας, ενώ επιπλέον διαγιγνώσκεται απώλεια του ασβεστίου από τα οστά, απώλεια φωσφόρου, αυξημένη αλκαλική φωσφατάση στο αίμα, αναιμία, νεφρική δυσλειτουργία και θραύση σε μεγάλα οστά και στη σπονδυλική στήλη. Η αιτία της ασθένειας αποδόθηκε στην άρδευση των ορυζώνων της περιοχής με το ρυπασμένο από κάδμιο νερό του ποταμού Jinzu. Η ρύπανση των υδάτων προήλθε από τα ορυχεία στα γειτονικά ορεινά. Η ασθένεια αυτή έδωσε ένα σημαντικό έναυσμα για τη συστηματική μελέτη των τοξικολογικών επιπτώσεων του καδμίου στον οργανισμό (Nordberg, 2009).

Από τις αρνητικές επιπτώσεις του καδμίου στον σκελετικό ιστό έχουν αναφερθεί οι εξής: 1) διαταραχές στην ενεργοποίηση της παραθυρεοειδούς ορμόνης που διεγείρει την παραγωγή της βιταμίνης D στα νεφρά 2) μειωμένη δράση των ενζύμων που ενεργοποιούν τη βιταμίνη D 3) αποβολή ασβεστίου στα νεφρά 4) μειωμένη απορρόφηση του ασβεστίου από τα έντερα 5) άμεση παρέμβαση στην πρόσληψη του ασβεστίου στα κύτταρα του σκελετικού ιστού 6) άμεση παρέμβαση στην παραγωγή κολλαγόνου στον σκελετικό ιστό (Kjellstrom, 1992).

3.3. Το κάδμιο στο περιβάλλον

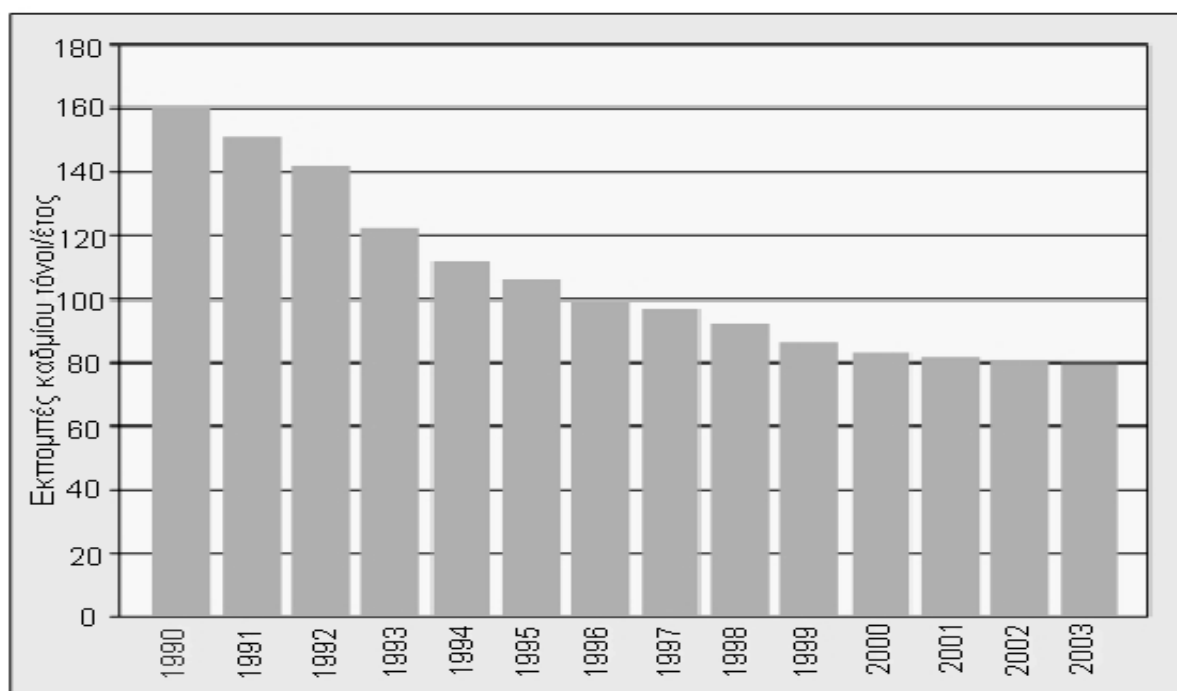
Η παρουσία του καδμίου στο περιβάλλον οφείλεται στις παρακάτω πηγές:

- φυσικές πηγές
- ανθρωπογενείς δραστηριότητες, που προκαλούν έμμεσα την απελευθέρωση του καδμίου, όπως τα ορυχεία ψευδαργύρου
- ανθρωπογενείς δραστηριότητες όπου το κάδμιο χρησιμοποιείται άμεσα, όπως οι μπαταρίες
- ανθρωπογενείς δραστηριότητες που επανακυκλοφορούν το κάδμιο, όπως οι χωματερές και τα μεταλλευτικά απόβλητα (UNEP, 2010).

Φυσικές πηγές εκπομπών καδμίου αποτελούν η ηφαιστειακή δραστηριότητα και η διάβρωση του εδάφους. Η διάβρωση του εδάφους είναι ένας σημαντικός παράγοντας της κινητικότητας του καδμίου που οδηγεί στην απελευθέρωσή του στο έδαφος και το υδατικό περιβάλλον. Πολλά διαφορετικά μεταλλεύματα περιέχουν κάδμιο σε συγκεντρώσεις από 0,008 μέχρι 0,8 mg/kg και η διάβρωσή τους οδηγεί σε αυξημένες συγκεντρώσεις στο έδαφος σε τοπικό επίπεδο. Η διάβρωση και η έκπλυση των βράχων έχει ως αποτέλεσμα τη μεταφορά του καδμίου στα ποτάμια και από αυτά στους ωκεανούς, με την απελευθέρωση περίπου 15.000 τόνων καδμίου ετησίως. Η βιόσφαιρα υφίσταται πρόσθετη επιβάρυνση με κάδμιο, λόγω της σκόνης των μετεωριτών. Η έκλυση καδμίου από την ηφαιστειακή δραστηριότητα εκτιμήθηκε το 2001 σε 1.600 τόνους. Ακόμα, η υποθαλάσσια ηφαιστειακή δραστηριότητα αποτελεί μια σημαντική πηγή έκλυσης καδμίου στους ωκεανούς (UNEP, 2010).

Οι ανθρωπογενείς δραστηριότητες συμβάλλουν σημαντικά στη ρύπανση της ατμόσφαιρας με κάδμιο. Οι εκπομπές καδμίου στην Ευρώπη τα χρόνια 1990-2003 παρουσιάζονται στο σχήμα 3.1. Από μετρήσεις σε διάφορες χώρες φαίνεται ότι σε σχέση με τη δεκαετία του 70' οι εκπομπές καδμίου έχουν μειωθεί. Η κύρια αιτία της μείωσης είναι ο καθαρισμός των αέριων αποβλήτων από τη βιομηχανική δραστηριότητα. Αυτό βέβαια δε συνεπάγεται ότι το πρόβλημα της ρύπανσης του περιβάλλοντος από το κάδμιο έχει λυθεί, εφόσον το μέταλλο αυτό χρησιμοποιείται ακόμα σε προϊόντα, όπως είναι οι μπαταρίες και άρα συσσωρεύεται στα στερεά απόβλητα. Επομένως, η περιβαλλοντική διαχείριση των αστικών και άλλων στερεών αποβλήτων κρίνεται απαραίτητη ώστε το μέταλλο αυτό να μην απελευθερώνεται εκ νέου στο περιβάλλον (WHO/UNECE, 2007).

Το κάδμιο απελευθερώνεται στο έδαφος μέσα από τρεις τύπους δραστηριοτήτων: από τη βιομηχανική δραστηριότητα, από τη χρήση σε προϊόντα, όπως τα ζιζανιοκτόνα και από τη διαχείριση των απορριμμάτων. Από όλες αυτές τις δραστηριότητες φαίνεται ότι σπουδαιότερο ρόλο παίζει η βιομηχανική δραστηριότητα, η οποία συμβάλλει περίπου στο 62% της συνολικής ρύπανσης του εδάφους, ενώ και η απελευθέρωση από τα απορρίμματα αποτελεί σημαντικό παράγοντα ρύπανσης (UNEP, 2010).



Σχήμα 3.1: Ετήσια εκπομπή καδμίου τα έτη 1990-2004 (24 ευρωπαϊκές χώρες-European Monitoring and Evaluation Programme (WHO/UNECE, 2007).

Το κάδμιο αποτελεί πηγή ρύπανσης και για το υδάτινο περιβάλλον. Η απελευθέρωση του καδμίου στο νερό υπολογίστηκε στους 900-3.600 τόνους παγκοσμίως το 1983. Κύριες πηγές επιμόλυνσης είναι τα οικιακά υγρά απόβλητα, η βιομηχανική επεξεργασία των μετάλλων και η παρασκευή χημικών. Στη συνολική ρύπανση του νερού από τις ανθρωπογενείς δραστηριότητες είναι αναγκαίο να προστεθεί και η φυσική απελευθέρωση του καδμίου στο νερό, που προέρχεται κυρίως από τη διάβρωση των βράχων, μέσω μετεωρολογικών φαινομένων και ανέρχεται περίπου στους 15.000 τόνους ετησίως (International Cadmium Association, 2006).

Το κάδμιο παράγεται κυρίως ως παραπροϊόν από τα ορυχεία και μεταλλεία ψευδαργύρου και σε μικρότερο βαθμό από το σίδηρο και το χαλκό. Το ποσοστό του καδμίου που υπάρχει στα ορυκτά ψευδαργύρου κυμαίνεται από 0.07-0.83%. Η δευτερογενής παραγωγή καδμίου από ανακύκλωση μπαταριών νικελίου-καδμίου έχει μια αυξητική τάση τα τελευταία χρόνια. Η παραγωγή και κατανάλωση καδμίου συνεχίζεται σε παγκόσμια κλίμακα. Η πρωτογενής παραγωγή καδμίου εκτιμήθηκε στους 18.800 τόνους τα έτη 2004 και 2005, με την Κίνα, την Ιαπωνία και την Κορέα να καταλαμβάνουν τις τρεις πρώτες θέσεις παράγοντας 2.800, 2.233 και 2.100 τόνους αντίστοιχα. Τα αποθέματα καδμίου εκτιμώνται στους 600.000 τόνους, τα οποία καλύπτουν την παγκόσμια παραγωγή για 30 χρόνια. (UNEP, 2010). Το κάδμιο μετατρέπεται σε οξείδιο του καδμίου, κυρίως στην Κίνα, το Βέλγιο και την Ιαπωνία. Η κύρια χρήση του είναι η παραγωγή μπαταριών. Μικρές φορητές μπαταρίες παράγονται κυρίως στην Κίνα και την Ιαπωνία, ενώ η Σουηδία και η Γαλλία είναι οι κύριοι παραγωγοί μπαταριών Ni-Cd για βιομηχανική χρήση. Η ανακύκλωση μπαταριών συμβάλλει στην παραγωγή του καδμίου σε πολλές χώρες, όπως η Αμερική, η Σουηδία, η Γαλλία, η Γερμανία και η Ιαπωνία. Εκτιμάται ότι σε αυτές τις χώρες η ανακύκλωση του καδμίου που χρησιμοποιείται για την παραγωγή μπαταριών είναι πάνω από 90% (International Cadmium Association, 2006).

Σχετικά με τη χρήση σε τελικά προϊόντα, η παγκόσμια τάση δείχνει ότι υπάρχει μια αυξητική τάση για χρήση του καδμίου σε μπαταρίες και μια πτωτική τάση για χρήση του καδμίου σε άλλα προϊόντα. Τα στατιστικά δεδομένα δείχνουν ότι η γενική παγκόσμια κατανάλωση πρωτογενούς καδμίου από το 1980 μέχρι σήμερα είχε μικρές διακυμάνσεις (πίνακας 3.1). Το 2005, οι μπαταρίες Ni-Cd κάλυψαν το 82% της παγκόσμιας κατανάλωσης καδμίου. Άλλες εφαρμογές του μετάλλου είναι επικαλύψεις

σε μέταλλα, χρήση σε οπλισμό, χρήση σε καλώδια και ηλεκτρονικό εξοπλισμό, ως σταθεροποιητής σε πλαστικά PVC και σε χρωματιστό γυαλί, χρήση σε αντιδραστήρια και σε οπτικο-ηλεκτρονικές συσκευές, όπως είναι οι φωτομεταδότες (International Cadmium Association, 2006).

Πίνακας 3.1. Παγκόσμια κατανάλωση καδμίου και κύριες χρήσεις τα έτη 1980, 1995 και 2005 (International Cadmium Association, 2006).

Χρήσεις	1980		1995		2005	
	Τόνοι Cd/έτος	Ποσοστό	Τόνοι Cd/έτος	Ποσοστό	Τόνοι Cd/έτος	Ποσοστό
Μπαταρίες	3.917	23	12.627	67	13.240	82
Χρωστικές ουσίες	4.598	27	2.639	14	1.615	10
Επιμετάλλωση	5.790	34	1.508	8	969	6
Σταθεροποιητές σε πολυμερή	2.044	12	1.696	9	242	1,5
Άλλες χρήσεις	681	4	377	2	81	0,5
Σύνολο	17.030	100	18.847	100	16.146	100

3.3. Πηγές έκθεσης και αρνητικές επιπτώσεις

Το κάδμιο εισέρχεται στον ανθρώπινο οργανισμό διαμέσου των παρακάτω οδών:

- ατμοσφαιρικός αέρας
- τροφή
- νερό
- έδαφος
- κάπνισμα

Ο ατμοσφαιρικός αέρας έχει συνήθως χαμηλή περιεκτικότητα σε καδμίο. Το κάδμιο στον ατμοσφαιρικό αέρα απαντάται σε μοριακή μορφή, αλλά η ακριβής χημική δομή δεν έχει ακριβώς εξακριβωθεί. Είναι πάντως πιθανό ότι το οξείδιο του καδμίου αποτελεί το βασικό συστατικό. Τις δεκαετίες 1970 και 1980, η συγκέντρωση του καδμίου στις μεγαλουπόλεις της Αμερικής, της Ευρώπης και της Ιαπωνίας κυμάνθηκε

από 2 έως 50 ng/m³. Μετρήσεις σε επαρχιακές και αστικές πόλεις της Ευρώπης έδειξαν ότι οι πρώτες έχουν 10 με 20 φορές χαμηλότερη συγκέντρωση καδμίου από τις μεγάλες πόλεις της Ευρώπης, ενώ οι πιο απομακρυσμένες περιοχές παρουσιάζουν ακόμα πιο χαμηλές τιμές, μέχρι και 100 φορές κάτω από τις αστικές περιοχές. Πάντως, από το 1970 μέχρι σήμερα, υπάρχει μια πτωτική τάση στη συγκέντρωση του καδμίου και υψηλές συγκεντρώσεις αναφέρονται περισσότερο στις βιομηχανίες που επεξεργάζονται κάδμιο, με τιμές από 200 έως 600 ng/m³. Ο αέρας εντός των βιομηχανιών είναι η κύρια πηγή καδμίου στους εργάτες. Στο παρελθόν είχαν καταγραφεί ακραίες τιμές καδμίου στον αέρα των εργοστασίων μπαταριών νικελίου-καδμίου, με την πρόκληση οξέων επεισοδίων τοξίνωσης που έφταναν μέχρι τον θάνατο. Οι μέγιστες τιμές έχουν καταγραφεί σε εργοστάσια στην Κίνα, με συγκεντρώσεις που έφταναν τα 3,54 mg/m³. Τα τοξικά επεισόδια και οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις του καδμίου οδήγησαν στη λήψη μέτρων για τη μείωση του μετάλλου στον ατμοσφαιρικό αέρα σε εργοστάσια με μεγάλη έκθεση, όπως είναι οι μονάδες παραγωγής μπαταριών και τα χυτήρια καδμίου-ψευδαργύρου. Ορισμένες χώρες έχουν θεσπίσει όρια για την εισπνεόμενη συγκέντρωση καδμίου σε 8 ώρες εργασίας που για τη Σουηδία ανέρχεται σε 5 mg/ m³, ενώ για την Αμερική ανέρχεται σε 2 mg/ m³ (Nordberg et al., 2007).

Το κάδμιο στο νερό είναι περιορισμένο λόγω του γεγονότος ότι εντοπίζεται κυρίως στα ιζήματα και όχι στην υδατική φάση. Ρύπανση του νερού παρουσιάζεται σε περιπτώσεις υπολειμμάτων καδμίου σε χρησιμοποιούμενα μεταλλικά υλικά για δίκτυα νερού. Το πόσιμο νερό συνήθως δεν περιέχει κάδμιο περισσότερο από 5 μg/L. Η μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση καδμίου στο νερό σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας είναι 3 μg/L (WHO, 2004).

Το έδαφος μπορεί να ρυπανθεί είτε από το νερό, είτε από τον αέρα, αλλά έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις ρύπανσης από γεωργικές πρακτικές, όπως τη λίπανση. Για παράδειγμα, ένα από τα συνηθέστερα λιπάσματα, το υπερφωσφορικό μπορεί να περιέχει κάδμιο και επομένως να μολύνει το έδαφος και τα καλλιεργούμενα φυτά. Η πρόσληψη του καδμίου από τις ρίζες εξαρτάται από πολλούς παράγοντες που αλλάζουν τη βιοδιαθεσιμότητά του. Εκτός από την ολική συγκέντρωση του καδμίου, άλλοι σημαντικοί παράγοντες είναι το εδαφικό pH, η παρουσία οργανικής ύλης, τα

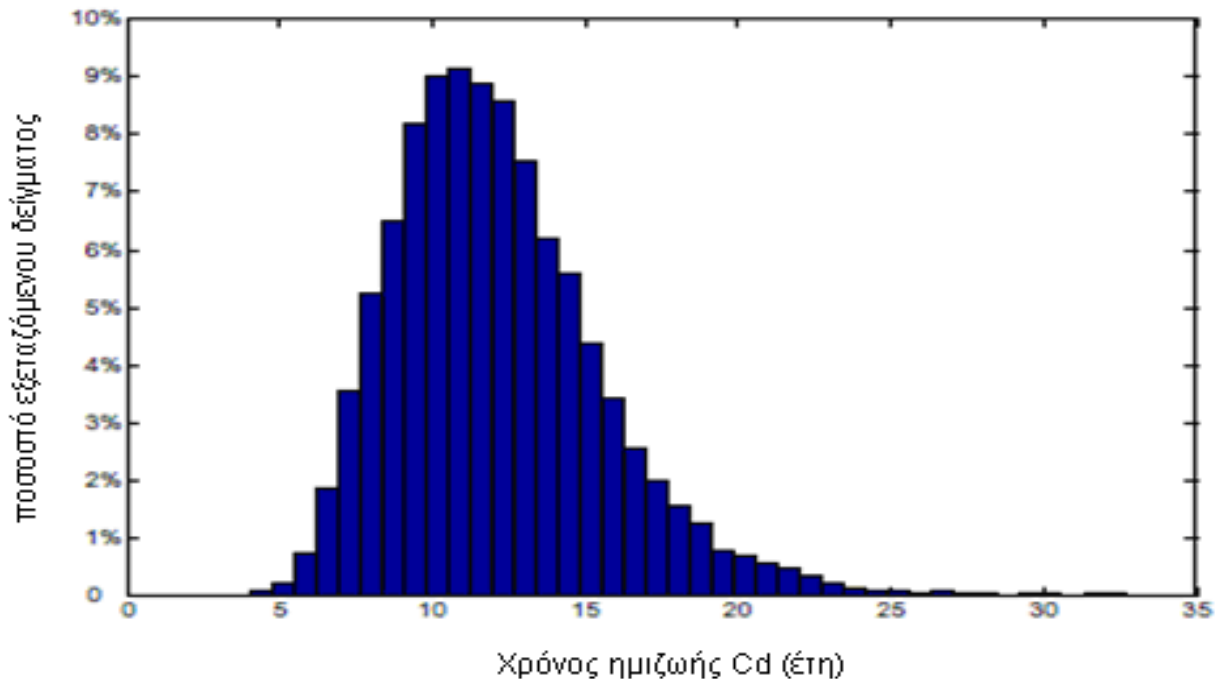
υπόλοιπα μέταλλα που υπάρχουν στο έδαφος, καθώς και το καλλιεργούμενο φυτικό είδος (UNEP, 2010).

Το κάπνισμα αποτελεί μια άλλη σημαντική παράμετρο επιβάρυνσης του ανθρώπινου οργανισμού. Υπολογίζεται ότι σε ένα τσιγάρο υπάρχουν 1 έως 2 μg καδμίου και από αυτά λαμβάνονται δια εισπνοής περίπου 0,1 έως 0,2 μg. Κατά προσέγγιση 20 τσιγάρα επιβαρύνουν την ημερήσια πρόσληψη καδμίου με 2 μg, ενώ ένα άτομο που καπνίζει δύο πακέτα την ημέρα εκτιμάται ότι προσλαμβάνει επιπλέον 15 mg καδμίου στον οργανισμό του για μια περίοδο 20 ετών. Η ημερήσια πρόσληψη καδμίου από το κάπνισμα επηρεάζεται κατά έναν μεγάλο βαθμό από την αρχική ποσότητα καδμίου στα φύλλα του καπνού. Καλλιέργειες καπνού στην Κίνα οδήγησαν στην πρόσληψη καδμίου μεταξύ 28 έως 34 μg ημερησίως, σε τοπικούς πληθυσμούς που κάπνιζαν τσιγάρα από ρυπασμένες φυτείες καπνού (Nordberg et al., 2007).

Το μεγαλύτερο πρόβλημα που συνδέεται με την τοξικότητα του καδμίου είναι η αδυναμία απομάκρυνσής του από τον οργανισμό. Αυτή οφείλεται σε δύο βασικούς παράγοντες. Ο πρώτος είναι ότι ο ανθρώπινος οργανισμός δεν έχει αποκτήσει έναν αποτελεσματικό μηχανισμό αποβολής του καδμίου, με αποτέλεσμα ο ρυθμός αποβολής του να είναι πάρα πολύ μικρός. Μόνο το 0,001% του καδμίου αποβάλλεται από το σώμα κάθε μέρα, κυρίως μέσα από τα ούρα. Αυτό δίνει στο κάδμιο τη δυνατότητα να παραμείνει στον ανθρώπινο οργανισμό για πολλά χρόνια, ακόμα και όταν η έκθεση σε αυτό σταματήσει. Ο χρόνος ημιζωής στο σώμα εκτιμάται ότι μπορεί να φτάσει μέχρι και τα 30 χρόνια (σχήμα 3.2). Ο δεύτερος παράγοντας που συμβάλλει στην επικινδυνότητα του καδμίου είναι η δυνατότητα του μετάλλου να επαναπορροφάται, μέσω της κυκλοφορίας του αίματος, με αποτέλεσμα να μειώνεται ο ρυθμός αποβολής του από τον οργανισμό (Satarug and Moore, 2004).

Η τοξικότητα του καδμίου στον οργανισμό χωρίζεται σε οξεία και χρόνια τοξικότητα. Οι περιπτώσεις οξείας τοξικότητας ήταν πιο συχνές στο παρελθόν, όπου λόγω της εισπνοής ρυπασμένου αέρα σε εργοστάσια επεξεργασίας καδμίου οι εργάτες έφταναν μέχρι τον θάνατο από χημική πνευμονία ή πνευμονικό οίδημα. Μια άλλη περίπτωση εμφάνισης οξείας τοξικότητας είναι η κατάποση καδμίου είτε από σκόνη που περιέχει μεγάλες συγκεντρώσεις καδμίου, ή από ρυπασμένο νερό ή από τρόφιμα που έχουν παρασκευαστεί σε δοχεία που περιέχουν κάδμιο. Σε αυτές τις περιπτώσεις όμως δεν προκαλείται θάνατος και αυτό γιατί, μέσω της γαστρεντερικής οδού

ενεργοποιούνται οι μηχανισμοί άμεσης αποβολής, όπως ο εμετός και η διάρροια (Nordberg et al., 2007).



Σχήμα 3.2. Κατ' εκτίμηση κατανομή του χρόνου ημιζωής του καδμίου (Amzal et al., 2009)

Χρόνια τοξίνωση του καδμίου παρατηρείται όταν δεν υπάρχει επαρκής προστασία των εργαζομένων, σε περιπτώσεις κατανάλωσης τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε κάδμιο και σε χρόνιους καπνιστές. Οι επιπτώσεις της χρόνιας τοξίνωσης που έχουν αναφερθεί είναι (Jeffrey and Kenneth, 1980; Satarug and Moore, 2004):

- διαταραχές στο αναπνευστικό σύστημα
- βλάβες στα νεφρά
- πρωτεϊνουρία
- αναιμία
- υψηλή πίεση
- διαταραχές στο συκώτι
- οστεοπόρωση και οστεομαλακία
- ασθένεια Itai-Itai
- καρκινογένεση
- αναπαραγωγικές διαταραχές

Οι χρόνιες επιπτώσεις λόγω της πρόσληψης καδμίου έχουν εμφανιστεί και σε περιπτώσεις που τα επίπεδα ημερήσιας πρόσληψης είναι χαμηλότερα από το επιτρεπόμενο καθορισμένο όριο. Ακόμα, φαίνεται ότι η χρόνια τοξικότητα διαφέρει σε κάποιες πληθυσμιακές ομάδες, όπως στις γυναίκες που παρουσιάζουν πιο συχνά κλινικά συμπτώματα από τους άνδρες. Το κάδμιο παραμένει ένας περιβαλλοντικός ρύπος μεγίστης σημασίας, καθώς μέχρι και σήμερα δεν έχει αναφερθεί κάποιο αποδοτικό θεραπευτικό φάρμακο, το οποίο να σχηματίζει χηλική ένωση με το κάδμιο και έτσι να βοηθά στην αποβολή του από τον οργανισμό. Έτσι, η σωστή αντιμετώπιση των επιπτώσεων του καδμίου πρέπει να συνδυάζει την αποδοτικότερη περιβαλλοντική διαχείριση και τη μείωση της πρόσληψής του, βάσει των διατάξεων της νομοθεσίας (Satarug and Moore, 2004).

Η τροφή συνεισφέρει στην έκθεση σε κάδμιο ανάλογα με τις διατροφικές συνήθειες του ατόμου και τη συγκέντρωση του καδμίου στα τρόφιμα. Η βιβλιογραφία αναφέρει μεγάλες διακυμάνσεις στην περιεκτικότητα του των τροφίμων διαφόρων χωρών. Γενικά έχουν αναφερθεί υψηλές συγκεντρώσεις καδμίου σε μολυσμένες περιοχές, όπως για παράδειγμα στην Ιαπωνία και στην Κίνα, όπου τα επίπεδα καδμίου στο ρύζι έφτασαν τα 4,2 και 3,7 mg/kg αντίστοιχα. Άλλη κατηγορία τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε καδμίο είναι τα θαλασσινά, όπως τα μύδια και άλλα οστρακοειδή (Nordberg et al., 2007).

Οι δυσμενείς συνέπειες του καδμίου στην υγεία του ανθρώπου οδήγησαν τις αρμόδιες εθνικές και διεθνείς αρχές στη λήψη νομοθετικών μέτρων. Το 1972, η JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants) μετά από κοινή διαβούλευση των αρμοδίων επιτροπών για τον περιορισμό των αρνητικών επιπτώσεων από τη συσσώρευση καδμίου στον ανθρώπινο οργανισμό, καθόρισε ως ανεκτό ανώτατο εβδομαδιαίο όριο πρόσληψης-Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI) τα 400-500 μg/άτομο, δηλαδή 57-71 μg/ημέρα. Το 1988 το όριο αυτό μειώθηκε αργότερα στο 1 μg/kg σ.β. την ημέρα και παρέμεινε το ίδιο μετά από διαδοχικές αναθεωρήσεις. Η Ευρωπαϊκή Ένωση ενέκρινε το ανεκτό ανώτατο εβδομαδιαίο όριο πρόσληψης των 7 μg/kg σ.β. και πρόσφατα συνέστησε εντονότερες προσπάθειες για τη μείωση της διατροφικής έκθεσης στο κάδμιο (EFSA, 2009).

Σχετικά με τη διερεύνηση έκθεσης του ελληνικού πληθυσμού στο κάδμιο, οι δημοσιευμένες μελέτες είναι σχετικά περιορισμένες. Διερεύνηση σε τρόφιμα ευρείας

κατανάλωσης έδειξε ότι η ημερήσια πρόσληψη καδμίου είναι 44,5 μg (Tsoumbaris and Tsoukali-Papadopoulou, 1994b), φτάνοντας το 62% της μέγιστης ανεκτής διατροφικής πρόσληψης για έναν ενήλικα 70kg. Σε μεταγενέστερη μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2002, βρέθηκε ότι η διατροφική πρόσληψη καδμίου κυμαίνεται μεταξύ 0,21-0,27 $\mu\text{g}/\text{ημέρα}/\text{kg}$ σωματικού βάρους, ενώ η συνολική πρόσληψη 0,6-2,52 $\mu\text{g}/\text{ημέρα}/\text{kg}$ σωματικού βάρους, ξεπερνώντας σε ορισμένες περιπτώσεις τη συνιστώμενη μέγιστη πρόσληψη του 1 $\mu\text{g}/\text{ημέρα}/\text{kg}$ σωματικού βάρους. Από την έρευνα προέκυψε ότι τα τρόφιμα που συνεισφέρουν περισσότερο στην πρόσληψη καδμίου, είναι τα δημητριακά, οι πατάτες, τα λαχανικά και τα θαλασσινά. Τη μεγαλύτερη συγκέντρωση καδμίου παρουσίασαν στα φυτικά τρόφιμα τα φυλλώδη λαχανικά (0,027 $\mu\text{g}/\text{g}$) και στα ζωικά τρόφιμα τα θαλασσινά (0,125 $\mu\text{g}/\text{g}$). Είναι χαρακτηριστικό ότι η πρόσληψη καδμίου από το κάπνισμα σε ένα συστηματικό καπνιστή είναι του ίδιου μεγάλους με τη διατροφική πρόσληψή του (Karavoltsos et al., 2003).

Το 2004 η Ελλάδα συμμετείχε σε ερευνητικό έργο στο πλαίσιο της συνεργασίας των κρατών μελών υπό τον τίτλο "SCOOP 3.2.11-Αξιολόγηση της διατροφικής έκθεσης του πληθυσμού των κρατών μελών της Ε.Ε. σε αρσενικό, κάδμιο, μόλυβδο και υδράργυρο. Με βάση τα στοιχεία που παρατίθενται στο κεφάλαιο 3 της SCOOP, η Ελλάδα εμφανίζει την τρίτη υψηλότερη μέση εβδομαδιαία πρόσληψη καδμίου (135 μg) μεταξύ των κρατών μελών, μετά την Ολλανδία (176 $\mu\text{g}/\text{εβδομάδα}$) και την Ιταλία (141 $\mu\text{g}/\text{εβδομάδα}$), υπερβαίνοντας τον κοινοτικό μέσο όρο (101 $\mu\text{g}/\text{εβδομάδα}$), λαμβάνοντας υπόψη ως μέσο βάρος ενός ενήλικου ατόμου τα 70 κιλά. Ποσοστό 83% της συνολικής ποσότητας καδμίου προήλθε από τα αλιεύματα (72% από ψάρια και 11% από τα υπόλοιπα είδη). Το υπόλοιπο 17% προήλθε από δημητριακά, φρούτα και λαχανικά, εντόσθια και κρέας (SCOOP 3.2.11, 2004).

Αξίζει να σημειωθεί ότι από τη συγκεκριμένη έρευνα στην Ελλάδα έλειπαν δεδομένα από σημαντικές κατηγορίες τροφίμων, όπως γαλακτοκομικά, ποτά και έλαια που ενδεχομένως να διαφοροποιούσαν το αποτέλεσμα της έρευνας. Παρόλα αυτά, τα ψάρια και τα άλλα αλιεύματα σίγουρα αποτελούν στην Ελλάδα μια από τις κυριότερες πηγές πρόσληψης καδμίου, λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων καδμίου σε αυτή την κατηγορία προϊόντων και της μεγάλης κατά κεφαλή ετήσιας κατανάλωσης αλιευμάτων. Η μέση εβδομαδιαία πρόσληψη καδμίου του ελληνικού πληθυσμού δεν ξεπέρασε το ανώτατο εβδομαδιαίο όριο πρόσληψης της Ε.Ε., αλλά συνιστάται μεγάλη

προσοχή σε ομάδες με συστηματική κατανάλωση δίθυρων μαλακίων, κεφαλόποδων, ψαριών και καρκινοειδών. Η έρευνα κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η μέση πρόσληψη καδμίου από τον γενικό πληθυσμό στα κράτη-μέλη ανέρχεται σε 101 $\mu\text{g}/\text{εβδομάδα}$, που αντιπροσωπεύει το 20% μέγιστης ανεκτής διατροφικής πρόσληψης για έναν ενήλικα βάρους 70 kg, ενώ στα παιδιά το ποσοστό είναι υψηλότερο, λόγω χαμηλότερου σωματικού βάρους. Τα δημητριακά, τα φρούτα, το κρέας και τα αλιευτικά προϊόντα αποτελούν τις κύριες πηγές καδμίου για τον γενικό πληθυσμό, λόγω της ευρείας κατανάλωσης των ειδών αυτών (SCOOP 3.2.11, 2004).

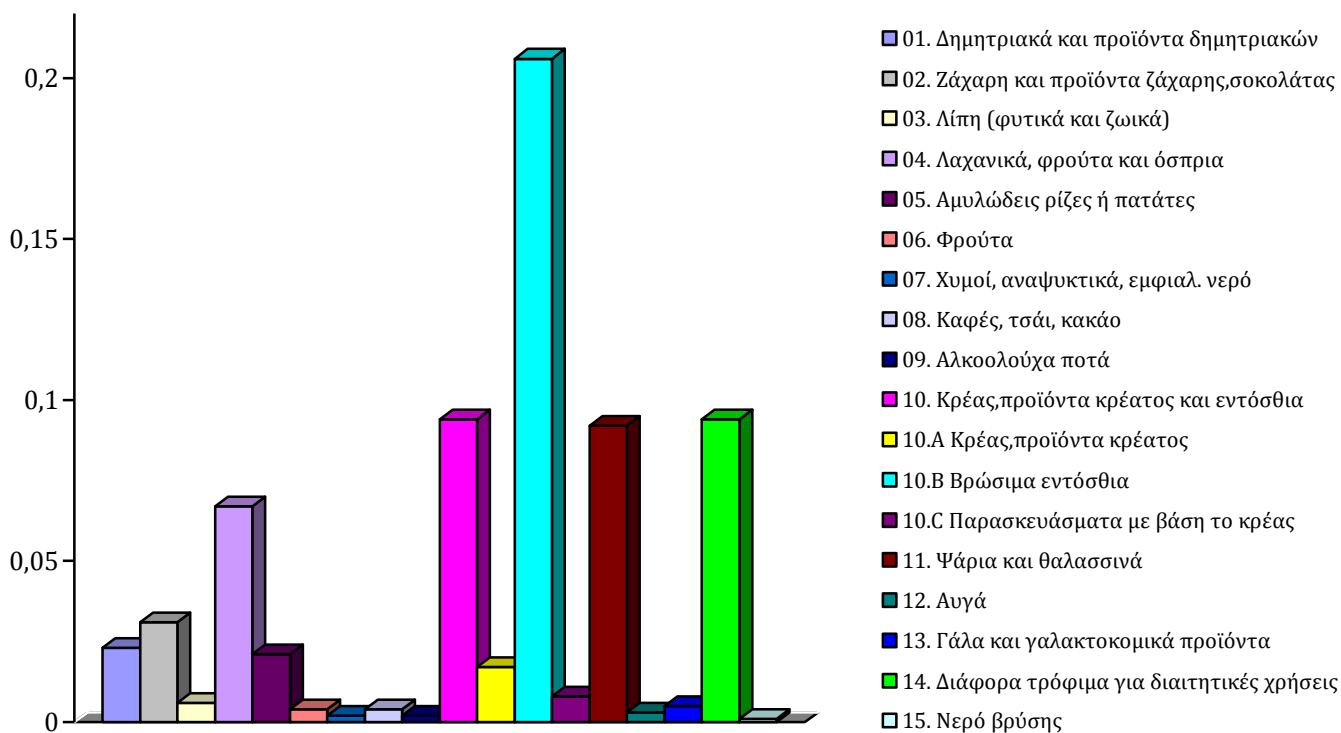
Μετά από απαίτηση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, η αρμόδια ομάδα (CONTAM) της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) κλήθηκε να επαναξιολογήσει τους κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία που συνδέονται με την παρουσία του καδμίου στα τρόφιμα και να αναθεωρήσει το ανεκτό ανώτατο εβδομαδιαίο όριο πρόσληψης του καδμίου. Για τον λόγο αυτό, ελήφθησαν περίπου 140.000 δείγματα στην περίοδο 2003 - 2007 από 20 διαφορετικά κράτη μέλη. Τα αποτελέσματα από τις κύριες ομάδες τροφίμων δίνονται στο σχήμα 3.3. Σύμφωνα με τα δεδομένα, οι υψηλότερες συγκεντρώσεις καδμίου ανιχνεύθηκαν στα εξής προϊόντα: διαιτητικά συμπληρώματα, ψάρια και τα θαλασσινά, σοκολάτα, εντόσθια, φρούτα και θαλασσινά (EFSA, 2009).

Για τα περισσότερα τρόφιμα μόνο ένα μικρό ποσοστό των δειγμάτων που αναλύθηκαν (<5%) υπερέβη το ανώτατο νομοθετικό επίπεδο, όπου αυτό έχει καθοριστεί. Έως 20% των δειγμάτων ήταν πάνω από το ανώτατο νομοθετικό όριο για ραπανοσέλινα, το κρέας αλόγου, τα ψάρια, τα δίθυρα μαλάκια εκτός από τα στρείδια και τα κεφαλόποδα. Είναι χαρακτηριστικό ότι εξαιρετικά επιβαρυσμένες περιοχές εμφάνισαν υψηλότερες συγκεντρώσεις καδμίου στα τοπικά παραγόμενα τρόφιμα. Επιπλέον, οι μεγάλες συγκεντρώσεις καδμίου που εντοπίστηκαν σε ορισμένα λαχανικά και φρούτα δείχνουν ότι συνιστάται μεγαλύτερη προσοχή στη χρήση των λιπασμάτων με υπολείμματα καδμίου, καθώς φαίνεται ότι συμβάλλουν σημαντικά στην αύξηση των συγκεντρώσεων καδμίου στις καλλιέργειες και τα παραγόμενα προϊόντα (EFSA, 2009).

Με βάση τα αποτελέσματα της έρευνας, η μέση εβδομαδιαία έκθεση των ευρωπαίων καταναλωτών ανέρχεται στα 2,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους την εβδομάδα (1,9 έως 3,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους ανά εβδομάδα) και η ανώτατη έκθεση ανέρχεται σε 3,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους την εβδομάδα (2,5 έως 3,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους).

Λόγω της υψηλής κατανάλωσης καρπών με κέλυφος, σιτηρών, ελαιούχων σπόρων και οσπρίων, οι χορτοφάγοι παρουσιάζουν ένα υψηλότερο βαθμό διατροφικής έκθεσης που μπορεί να ανέλθει μέχρι 5,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους την εβδομάδα. Οι συστηματικοί καταναλωτές δίθυρων μαλακίων και άγριων μανιταριών παρουσίασαν υψηλότερες τιμές διατροφικής πρόσληψης καδμίου (4,6 και 4,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους). Το κάπνισμα μπορεί να συμβάλει σε μια επιπλέον έκθεση των ατόμων, εκτός από τη διατροφή, ενώ και η σκόνη στο σπίτι μπορεί να είναι μια σημαντική πηγή έκθεσης για τα παιδιά.

Για την εκτίμηση της ανώτατης εβδομαδιαίας πρόσληψης χρησιμοποιήθηκε ένα μοντέλο πρόσληψης του καδμίου σε μια εθελοντική ομάδα γυναικών από τη Σουηδία. Η έρευνα κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η τρέχουσα έκθεση σε Cd θα πρέπει να μειωθεί. Ως εκ τούτου καθόριστηκε μια νέα ανεκτή εβδομαδιαία πρόσληψη (PTWI) ίση με 2,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους, περίπου τρεις φορές χαμηλότερη από τη προηγούμενη των 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σωματικού βάρους. Η μέση έκθεση για τους ενήλικες σε όλη την Ευρώπη είναι κοντά, ή ελαφρώς μεγαλύτερη, από την νέα PTWI, αλλά υπο-ομάδες, όπως τα παιδιά, οι χορτοφάγοι και οι καπνιστές μπορεί να υπερβαίνουν την PTWI κατά περίπου 2 φορές (EFSA, 2009).



Σχήμα 3.3. Μέσοι όροι καδμίου (mg/kg) σε προϊόντα της Ε.Ε. (EFSA, 2009).



Κεφάλαιο 4. Μόλυβδος

4.1. Χημεία και γενικά χαρακτηριστικά

Ο μόλυβδος είναι ένα μεταλλικό στοιχείο που ανήκει στην ομάδα IV του περιοδικού πίνακα. Έχει ατομικό αριθμό 82 και σχετική ατομική μάζα 207,2. Ο καθαρός μόλυβδος είναι ένα αργυρόχρωμο-λευκό μέταλλο που οξειδώνεται εύκολα παρουσία αέρα. Έχει σημείο τήξης τους 328°C, σημείο ζέσης τους 1.750°C και υψηλή πυκνότητα (11,3 g/cm³). Είναι μέταλλο μαλακό και εύκαμπτο και παρουσιάζει μεγάλη ευκολία στην επεξεργασία, σταθερότητα στα οξέα, στον αέρα και στο νερό. Ο μόλυβδος χαρακτηρίζεται από την ικανότητα να απορροφά τα ηχητικά κύματα και την ακτινοβολία. Στον μόλυβδο συναντώνται ενώσεις σε τρεις χημικές μορφές: καθαρό μέταλλο, σε ενώσεις με ανόργανα στοιχεία (άλατα) και σε οργανικές ενώσεις. Ο φυσικός μόλυβδος αποτελείται από τέσσερα σταθερά ισότοπα: ²⁰⁸Pb, ²⁰⁶Pb, ²⁰⁷Pb και ²⁰⁴Pb (EFSA, 2010).

Ο μόλυβδος υπάρχει σε τρεις οξειδωτικές καταστάσεις: Pb(0), Pb(II) και Pb(IV). Ο μεταλλικός μόλυβδος Pb(0) σπάνια συναντάται στη φύση. Η εξόρυξή του γίνεται συνήθως με τις μορφές ορυκτών με θείο ή άνθρακα, για παράδειγμα (PbS), (PbCO₃), (PbO₂) και (PbSO₄). Στις ανόργανες ενώσεις, ο μόλυβδος συναντάται ως δισθενής Pb(II), ενώ στις οργανικές ενώσεις κυρίαρχη μορφή αποτελεί ο τετρασθενής μόλυβδος Pb(IV). Υπάρχουν πάνω από 200 γνωστές οργανικές ενώσεις του μολύβδου. Δύο από αυτές, ο τετραμεθυλομόλυβδος [Pb(CH₃)₄] και ο τετρααιθυλομόλυβδος (C₂H₅)₄Pb χρησιμοποιήθηκαν ευρέως ως πρόσθετα καυσίμων στη βενζίνη τύπου "σούπερ", η οποία για περιβαλλοντικούς λόγους αντικαταστάθηκε με την αμόλυβδη βενζίνη (EFSA, 2010).

4.2. Ιστορική αναδρομή

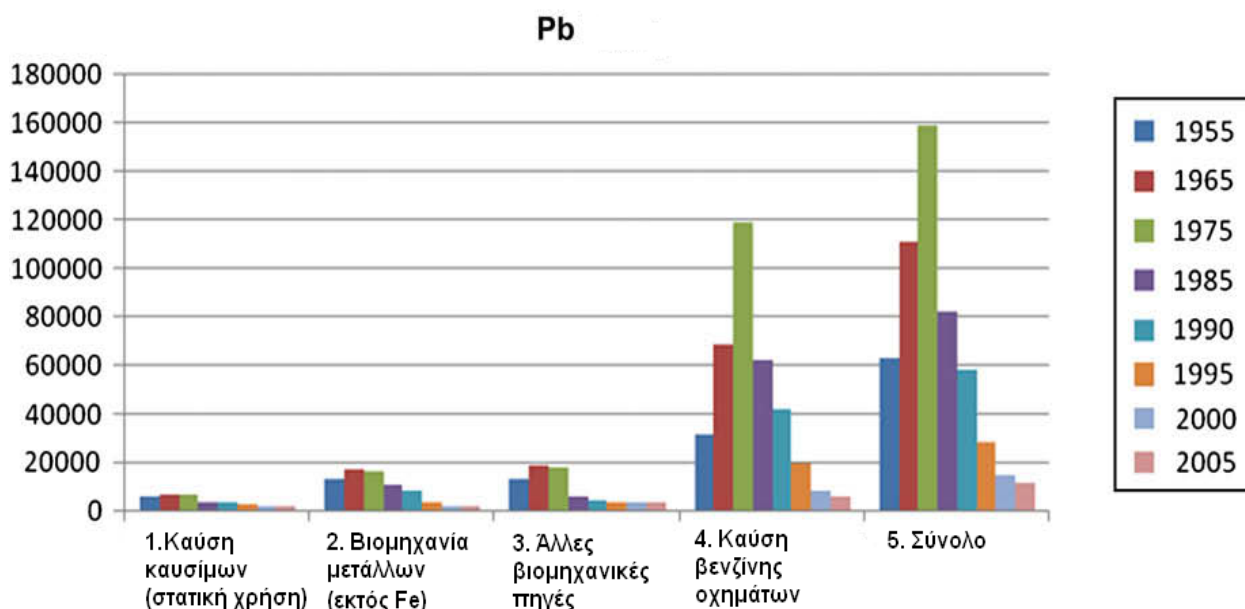
Οι ιδιότητες του μολύβδου ήταν γνωστές από την αρχαιότητα. Τα πρώτα χρηστικά αντικείμενα μολύβδου εντοπίζονται στην Άβυδο της Αιγύπτου και χρονολογούνται πριν το 4000 π.Χ. Την εποχή εκείνη η χρήση του μετάλλου θεωρείται αρκετά περιορισμένη. Περίπου το 2000 π.Χ. ανακαλύπτεται ότι ορισμένα μεταλλεύματα του μολύβδου περιέχουν σημαντικό ποσοστό αργύρου, οδηγώντας έτσι στη συστηματική εξόρυξή του. Την εποχή του σιδήρου ο μολύβδος χρησιμοποιείται ως βασικό μέταλλο για την κατασκευή διαφόρων αντικειμένων, όπως βάρη, πανοπλίες και καλούπια μετάλλων. Στη συνέχεια και κατά τους Ρωμαϊκούς χρόνους καταγράφεται συστηματική εξόρυξη του μολύβδου στην Ισπανία, Αγγλία, Γαλλία, Βέλγιο και Γερμανία. Στους μεσαιωνικούς χρόνους ανακαλύπτονται όλο και περισσότερες ιδιότητες του μετάλλου, με αποτέλεσμα να πληθαίνουν οι εφαρμογές του σε αντικείμενα καθημερινής χρήσης όπως τα μαγειρικά σκεύη, τα πιάτα και τα κεραμικά, ενώ σωλήνες μολύβδου χρησιμοποιούνται ευρύτατα για τα δίκτυα του νερού. Ο οξικός μολύβδος, γνωστός ως «ζάχαρη του μολύβδου» χρησιμοποιήθηκε στη ρωμαϊκή αυτοκρατορία ως γλυκαντικό μέσο στο κρασί. Η ευρεία χρήση του μολύβδου οδηγεί στη συχνή εμφάνιση τοξικών επεισοδίων, όμως οι πρώτες επιστημονικές καταγραφές εμφανίζονται τον 16^ο αιώνα. Ακόμα και τότε πολλοί ειδικοί διαφωνούν για την τοξικότητα του μολύβδου, αποδίδοντας σε αυτόν φαρμακολογικές ιδιότητες. Κλινική διάγνωση τοξικότητας του μολύβδου καταγράφηκε μετά τα μέσα του 18^{ου} αιώνα, ενώ από τα μέσα του 20^{ου} αιώνα η επιστημονική κοινότητα μελετά συστηματικά τις χρόνιες τοξικολογικές επιπτώσεις του μολύβδου στο περιβάλλον (Griffin and Knelson, 1975).

4.3. Ο μολύβδος στο περιβάλλον

Οι φυσικές πηγές του μολύβδου προέρχονται από την κινητικότητα της λιθόσφαιρας στη βιόσφαιρα, κυρίως μέσω των ηφαιστείων και της διάβρωσης των βράχων. Ένα μικρό ποσοστό προέρχεται επίσης από μετεωρίτες και αστρική σκόνη. Μέσω της διάβρωσης, ο μολύβδος απελευθερώνεται στο έδαφος και στο νερό και ανακυκλώνεται μέσω των καιρικών φαινομένων, των πυρκαγιών και της θαλάσσιας αύρας. Εκτιμάται ότι το 2001 η παγκόσμια έκλυση μολύβδου από φυσικές πηγές άγγιξε τους 1.800 χιλιάδες τόνους (EFSA, 2010).

Η ατμοσφαιρική απελευθέρωση είναι ο κυριότερος παράγοντας εισόδου του μολύβδου στον βιογεωχημικό κύκλο. Ο μολύβδος εκλύεται στην ατμόσφαιρα μέσω της βιομηχανικής καύσης, των καυσίμων από την κίνηση των οχημάτων και των αποβλήτων. Στην ατμόσφαιρα εντοπίζεται σε μορφή ατμοσφαιρικών αερολυμάτων και κυριότερα ως θειικός ή ανθρακικός μολυβδος, ενώ μέσω των εκπομπών καυσίμων που περιέχουν μολύβδο εκλύονται διάφορα παράγωγα όπως οργανικές ενώσεις του μολύβδου (π.χ. R_3PbCl), καθώς και ο μεταλλικός μολύβδος (EFSA, 2010).

Υπάρχουν συστηματικές καταγραφές για τα επίπεδα της συγκέντρωσης μολύβδου στην ατμόσφαιρα από διεθνείς οργανισμούς, όπως τα Ηνωμένα Έθνη - UN, ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Περιβάλλοντος - ΕΕΑ, ο διεθνής οργανισμός για τον έλεγχο της ρύπανσης στην Αρκτική -AMAP κ.α. Τα δεδομένα δείχνουν ότι από το 1975 μέχρι και σήμερα υπάρχει μια πτωτική τάση της συγκέντρωσης του μολύβδου στην ατμόσφαιρα. Το σχήμα 4.1. απεικονίζει την αλλαγή στην ατμοσφαιρική απελευθέρωση του μολύβδου στην Ευρώπη από το 1955 μέχρι το 2005. Είναι χαρακτηριστικό ότι η μείωση της ατμοσφαιρικής ρύπανσης συνδέεται άμεσα με την απαγόρευση της προσθήκης μολύβδου στα καύσιμα, η οποία καθιερώθηκε τα τελευταία 15 χρόνια (Pacyna et al., 2009).

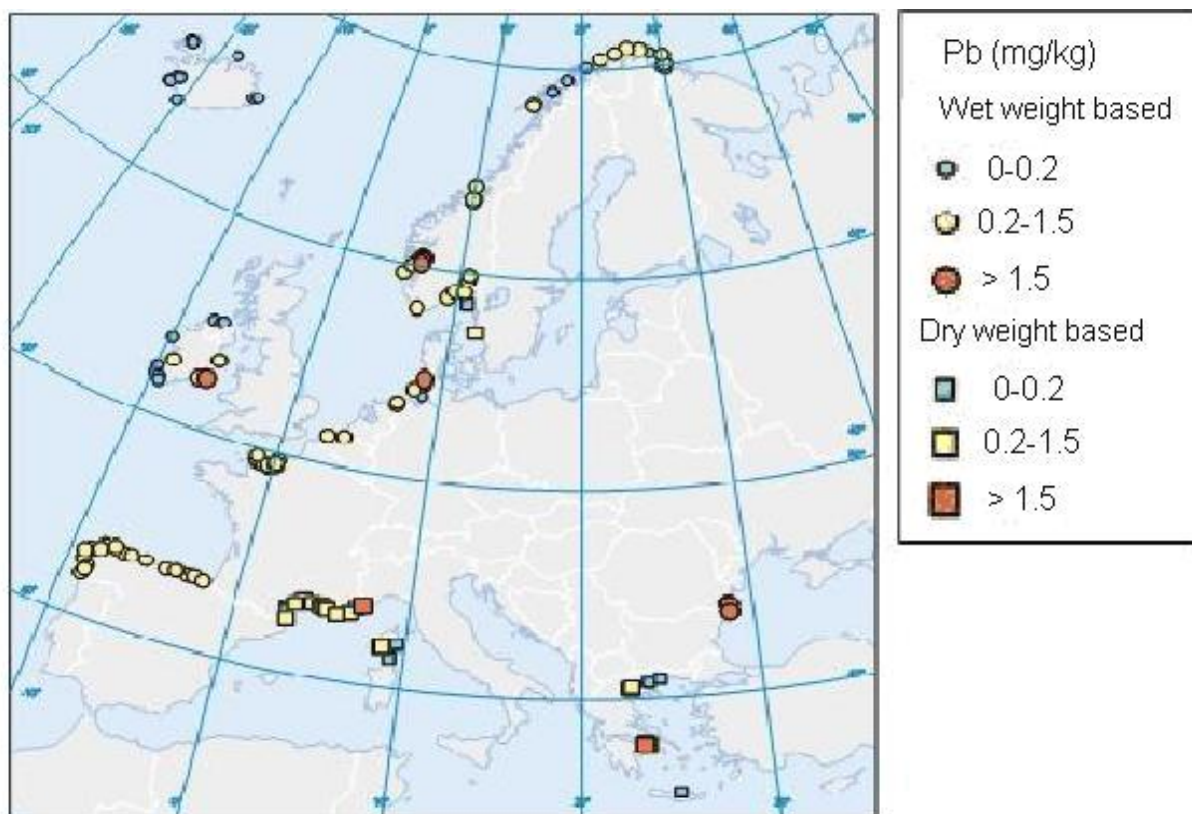


Σχήμα 4.1. Πηγές ατμοσφαιρικής ρύπανσης του μολύβδου τα έτη 1955 ως 2005 (Pacyna et al., 2009).

Ο μόλυβδος στο έδαφος δεν παρουσιάζει μεγάλη κινητικότητα. Η παραμονή του μολύβδου στο έδαφος μπορεί να ξεπεράσει τα 5.000 χρόνια, αλλά υπό συνθήκες χαμηλής οξύτητας, παρουσίας χουμικών οξέων και άλλων ενώσεων το μέταλλο μπορεί να γίνει περισσότερο διαλυτό και να προσληφθεί από τις ρίζες των φυτών. Η συγκέντρωσή του μολύβδου στο έδαφος επηρεάζεται κυρίως από τις τοπικές ανθρωπογενείς δραστηριότητες. Έτσι τα ποσοστά μολύβδου στο έδαφος ποικίλουν από 10-30 mg/kg σε μη ρυπασμένο έδαφος, ως και 60.000 mg/kg σε βιομηχανικές περιοχές, σε εργοστάσια μπαταριών ή ορυχεία. Η παρουσία του μολύβδου στο έδαφος μπορεί να είναι παράγοντας ρύπανσης του υδροφόρου ορίζοντα, περνώντας μέσα από τη διεργασία της διάβρωσης στα επιφανειακά νερά (EFSA, 2010).

Οι άμεσες ρίψεις μολύβδου στο νερό είναι σχετικά μικρές σε σύγκριση με τις εκλύσεις στον αέρα και το έδαφος. Η εναπόθεση στο νερό το 1983 υπολογίστηκε σε 10.000-67.000 τόνους, ενώ η ατμοσφαιρική εναπόθεση το ίδιο έτος εκτιμήθηκε στους 87.000-113.000 τόνους. Σχετικά με τη χρονική μεταβολή και τα επίπεδα μολύβδου στο θαλάσσιο περιβάλλον, σε μελέτη για τα έτη 1995-1999 στη Μεσόγειο θάλασσα και τον Ατλαντικό ωκεανό, παρατηρήθηκε μείωση στα επίπεδα μολύβδου, ενώ σημειώθηκαν και τιμές πάνω από τα κανονιστικά όρια (>1,5mg/kg, Κανονισμός Ε.Ε. 1881/2006) σε αρκετές ευρωπαϊκές ακτές (σχήμα 4.2).

Ο μόλυβδος συνεχίζει να χρησιμοποιείται ευρύτατα και σε παγκόσμιο επίπεδο, αν και περιβαλλοντικοί λόγοι έχουν μειώσει τη χρήση του σε ορισμένες δραστηριότητες. Αρκετά σημεία με μεγάλες συγκεντρώσεις μολύβδου συνδέονται άμεσα με τοπικές βιομηχανικές δραστηριότητες, όπως τα ορυχεία της δυτικής Νορβηγίας. Το 2004, η παγκόσμια εξόρυξη του μολύβδου έφτασε τους 3.150.000 τόνους, ενώ ορυχεία μολύβδου λειτουργούν σε περισσότερες από 40 χώρες. Ο μόλυβδος πωλείται και αγοράζεται παγκοσμίως σε διάφορες μορφές. Η Κίνα είναι πρωτοπόρος στην παραγωγή και χρήση μολύβδου με πρωτογενή παραγωγή 1.812.000 τόνων, ενώ άλλες χώρες με σημαντική παραγωγική και εξαγωγική δραστηριότητα είναι η Αυστραλία, το Περού και οι Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (EEA, 2006).



Σχήμα 4.2. Επίπεδα μολύβδου στη Μεσόγειο θάλασσα και τον Ατλαντικό Ωκεανό από μετρήσεις σε μύδια του είδους *Mytilus edulis*, τα έτη 1995-1999. Με κόκκινο τα σημεία που ξεπέρασαν το όριο της νομοθεσίας της Ε.Ε., 1,5 mg/kg (EEA, 2006).

Οι κύριες χρήσεις του μολύβδου είναι σήμερα (EFSA, 2010):

- Μπαταρίες, όπως μπαταρίες μικρών και βαρέων οχημάτων και τύπου-backup
- Οπλισμός (καραμπίνες, πιστόλια, σφαίρες)
- Πρόσθετο σε βενζίνη (σε μείωση, λόγω απαγόρευσης)
- Κατασκευή καλωδίων
- Φύλλα για κατασκευές, όπως οροφές
- Πρόσθετα σε βαφές, βερνίκια, πλαστικά, κεραμικά, καθώς και προστατευτικά στην ακτινοδιάγνωση και ακτινοθεραπεία
- PVC σταθεροποιητές (κυρίως για PVC εξωτερικής χρήσης)
- Άλλες εφαρμογές, όπως βάρη, πορσελάνες, πυροτεχνήματα, καλλυντικά και αντισηπτικά

4.4. Πηγές έκθεσης και επιπτώσεις

Ο μόλυβδος μπορεί να εισέλθει στον ανθρώπινο οργανισμό, μέσω πολλών και διαφορετικών πηγών, όπως:

- Εισπνοή
- Κατάποση
- Διαιτητική πρόσληψη
- Δερματική πρόσληψη

Τα επίπεδα μολύβδου στον αέρα εξαρτώνται άμεσα από τη χρήση βενζίνης με μόλυβδο. Σε πόλεις που χρησιμοποιείται ακόμα βενζίνη με μόλυβδο και υπάρχει αυξημένη κίνηση τα επίπεδα μολύβδου μπορούν να αγγίξουν τιμές μεγαλύτερες από 2.800 ng/m³, όπως έχει καταγραφεί για παράδειγμα στη Βηρυτό και σε πυκνοκατοικημένες πόλεις της Ινδίας. Επίσης, οι εργαζόμενοι σε εργοστάσια μολύβδου και οι κάτοικοι γύρω από αυτά επιβαρύνονται μέσω εισπνοής ρυπασμένου αέρα, ο οποίος μπορεί να παρουσιάσει συγκεντρώσεις μέχρι και 18.300 ng/m³. Επιπλέον, οι καπνιστές προσλαμβάνουν μόλυβδο από την εισπνοή του καπνού, δεδομένου ότι ένα τσιγάρο περιέχει 3-12 μg και περίπου 2% από αυτό εισπνέεται από τον καπνιστή (Nordberg et al., 2007).

Η κατάποση μολύβδου μέσω της σκόνης και του εδάφους είναι σοβαρός παράγοντας επιμόλυνσης των παιδιών, λόγω των βιολογικών και φυσιολογικών χαρακτηριστικών τους. Η συμπεριφορά των παιδιών να πιάνουν συνεχώς αντικείμενα και να βάζουν τα χέρια στο στόμα τους, μπορεί να οδηγήσει σε κατάποση μεγάλης ποσότητας μολύβδου σε επιβαρυνμένες περιοχές. Η συγκέντρωση μολύβδου στο νερό εξαρτάται άμεσα από τη χρήση του μετάλλου στα δίκτυα ύδρευσης και από τη ρύπανση των επιφανειακών υδάτων. Για παράδειγμα στη Γερμανία, έχουν καταγραφεί συγκεντρώσεις από <5μg/L μέχρι και 15 μg/L. Η μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση του μολύβδου στο πόσιμο νερό είναι για την Ευρωπαϊκή Ένωση 25 μg/L και από το 2013 μειώνεται στα 10 μg/l (ATSDR, 2007).

Η πρόσληψη του μολύβδου από την τροφή είναι ο σημαντικότερος παράγοντας επιμόλυνσης στους ενήλικες που δεν εργάζονται σε σχετικές βιομηχανικές δραστηριότητες. Τα επίπεδα πρόσληψης του μολύβδου εξαρτώνται άμεσα από τις διατροφικές συνήθειες του πληθυσμού και από το βαθμό ρύπανσης των διαφόρων ομάδων τροφίμων. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας σε συνεργασία με τον παγκόσμιο

Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (FAO-Food and Agriculture Organization) έχει καθορίσει τα επίπεδα της ανεκτής εβδομαδιαίας πρόσληψης μολύβδου στα 25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{κιλό}$ σωματικού βάρους (EFSA, 2010).

Σχετικά με τις επιπτώσεις του μολύβδου στον ανθρώπινο οργανισμό, φαίνεται ότι το μέταλλο αυτό είναι τοξικό σε αρκετά χαμηλές συγκεντρώσεις, με οξείες και χρόνιες επιπτώσεις στην υγεία των ατόμων. Αμέσως μετά την είσοδό του στον οργανισμό, ο μολύβδος διασπείρεται σε διάφορα όργανα, αλλά στη συνέχεια αναδιανέμεται σε δύο τμήματα. Το πρώτο τμήμα περιλαμβάνει το αίμα και τους μαλακούς ιστούς, σημεία από τα οποία εύκολα μπορεί να μετακινηθεί. Το δεύτερο τμήμα περιλαμβάνει τον σκελετικό ιστό, ο οποίος αποτελεί και το κύριο σημείο αποθήκευσης του μετάλλου. Κατά τη διάρκεια του χρόνου, η συγκέντρωση του μολύβδου στο πρώτο τμήμα σταθεροποιείται και σε μερικές περιπτώσεις μειώνεται, ενώ αντίθετα ο μολύβδος στα οστά αυξάνεται με το πέρασμα του χρόνου. Περισσότερο από 95% του περιεχόμενου μολύβδου αποθηκεύεται στους σκληρούς ιστούς-οστά και δόντια-λόγω της μεγάλης συγκέντρωσής τους σε ασβέστιο, το οποίο και αντικαθιστά (AMAP, 1998).

Η μακροχρόνια έκθεση στο μολύβδο επιφέρει τοξικολογικά συμπτώματα σε πολλά διαφορετικά όργανα με νευρολογικές, καρδιολογικές, νεφρικές, γαστρεντερικές, αιματολογικές και αναπαραγωγικές διαταραχές. Ο τύπος και η σοβαρότητα των αποτελεσμάτων έκθεσης εξαρτάται από το επίπεδο μόλυνσης, τη διάρκεια και την ηλικία του οργανισμού. Στον πίνακα 4.1. φαίνονται οι κυριότερες τοξικολογικές επιπτώσεις του μολύβδου στα παιδιά και τους ενήλικες. Όπως φαίνεται από τα στοιχεία, τα παιδιά είναι περισσότερο ευάλωτα στην επίδραση του μολύβδου, λόγω αυξημένου μεταβολισμού και ρυθμού αναπνοής. Άλλες πληθυσμιακές ομάδες που επηρεάζονται περισσότερο είναι τα βρέφη μέχρι 2 ετών και οι γυναίκες στην αναπαραγωγική ηλικία, λόγω της μεταφοράς μολύβδου στο έμβρυο, μέσω της εγκυμοσύνης και του θηλασμού. Τέλος, στα παιδιά της σχολικής ηλικίας που έχουν εκτεθεί στον μολύβδο έχουν αποδοθεί μαθησιακά προβλήματα, όπως μειωμένη απόδοση και διαταραχές στη συμπεριφορά κατά τη μάθηση (WHO/UNECE, 2007).

Πίνακας 4.1. Επιπτώσεις του Pb στην υγεία παιδιών και ενηλίκων και εύρος συγκεντρώσεων που συνδέονται με κάθε διαταραχή (WHO/UNECE, 2007).

Ασθένεια	Pb (μg/L)	
	Παιδιά	Ενήλικες
Χαμηλό επίπεδο ενζύμου ALAD για παραγωγή αίμης	<50	<50
Επίδραση στην ομαλή λειτουργία των νεύρων		>40 (στους ηλικιωμένους)
Επίδραση στην ανάπτυξη νευρικού συστήματος	<100	
Διαταραχές στη σεξουαλική ωρίμανση	<100	
Μείωση ρυθμού λειτουργίας νεφρών		<100
Υψηλή πίεση		<100
Χαμηλά επίπεδα βιτ. D	>150	
Υψηλή συγκέντρωση πρωτοπορφυρίνης/ερυθρά αιμόσφ.	>150	>200 (σε γυναίκες)
Χαμηλή ταχύτητα μετάδοσης σημάτων μέσω των νευρώνων	>300	
Ενζυμοουρία/Πτωτείνουρία		>300
Χαμηλή αιμοσφαιρίνη	>400	>500
Δυσλειτουργία θυρεοειδούς, χαμηλή αναπαραγωγικότητα		>400
Θάνατος	>1 000	>1 500

Τα επιστημονικά δεδομένα για την έκθεση των Ελλήνων καταναλωτών στο μόλυβδο είναι αρκετά περιορισμένα. Μια έρευνα που δημοσιεύτηκε το έτος 1994 αναφέρει ότι μετά από μελέτη στις συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων (Pb, Cd) σε τρόφιμα καθημερινής χρήσης, όπως ψωμί, ζυμαρικά, ντομάτες, κρέας, φρούτα, ψάρια και γαλακτοκομικά βρέθηκε ότι το ημερήσιο επίπεδο έκθεσης στο μόλυβδο είναι 179,3 μg (Tsoumbaris and Tsoukali-Papadopoulou, 1994b) και βάσει αυτού το ποσού συμπεραίνεται ότι η έκθεση στο μόλυβδο αγγίζει το 71% της μέγιστης ανεκτής εβδομαδιαίας πρόσληψης για έναν ενήλικα 70 kg. Μια μεταγενέστερη μελέτη επί Ελληνικού εδάφους (Voutsas and Samara, 1998) εξέτασε τη διατροφική έκθεση των Ελλήνων καταναλωτών στο μόλυβδο σε σχέση με την κατανάλωση λαχανικών. Η έρευνα κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η έκθεση των καταναλωτών στο μόλυβδο από

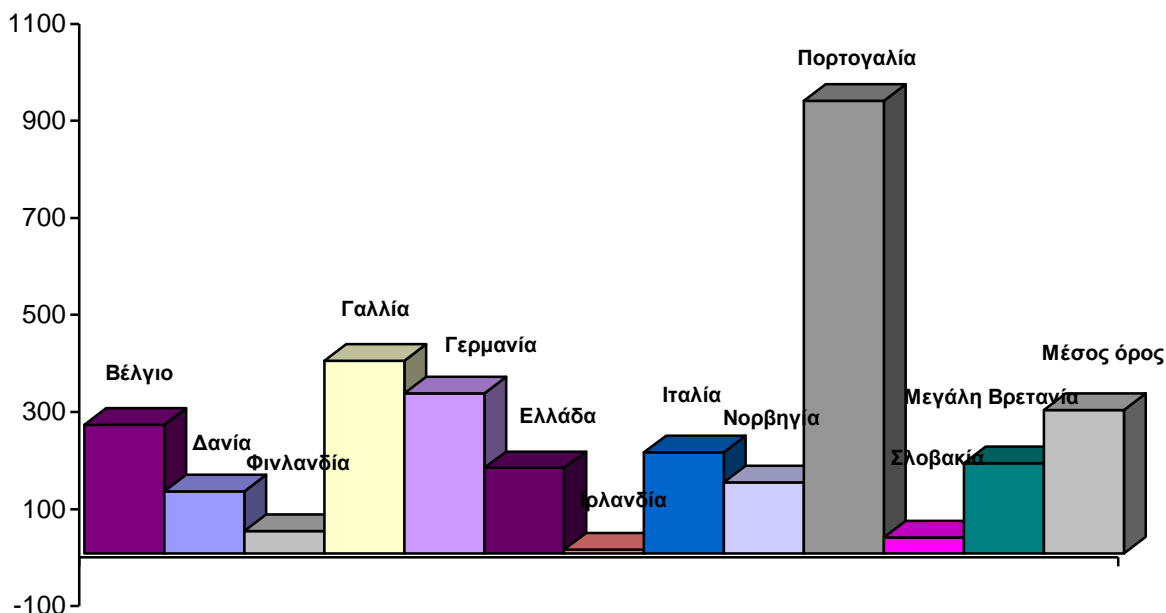
τα λαχανικά ανέρχεται στο 23,6% του ανώτατου ανεκτού ορίου της ημερήσιας διατροφικής πρόσληψης για τους ενήλικες, ενώ φαίνεται ότι η έκθεση των καταναλωτών στο μόλυβδο είναι μεγαλύτερη κατά τη διάρκεια της άνοιξης σε σχέση με το χειμώνα.

Η αξιολόγηση της διατροφικής έκθεσης του Ελληνικού και Ευρωπαϊκού πληθυσμού στο μόλυβδο πραγματοποιήθηκε το 2004 στο πλαίσιο του έργου "SCOOP-European Commission Scientific Cooperation Project). Στο σχήμα 4.3. δίνεται η εβδομαδιαία πρόσληψη σε 12 χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας. Φαίνεται ότι η Πορτογαλία είναι η χώρα με τη μεγαλύτερη πρόσληψη μολύβδου, λόγω των αυξημένων επιπέδων του μετάλλου σε λαχανικά ευρείας κατανάλωσης, όπως στις πατάτες. Ανάμεσα στις 12 χώρες που εξετάστηκαν, η Ελλάδα βρίσκεται στην έβδομη θέση στη διατροφική έκθεση στο μόλυβδο.

Σχετικά με τις ομάδες τροφίμων που συνεισφέρουν περισσότερο στην πρόσληψη του μολύβδου στο σύνολο της κοινότητας, οι πέντε ομάδες που συνεισφέρουν περισσότερο είναι τα φρούτα και τα λαχανικά, τα ποτά (αλκοολούχα και μη), τα δημητριακά και προϊόντα αυτών, το αλάτι και τα καρυκεύματα, το κρέας και τα ψάρια. Στην Ελλάδα, η κατανομή των τροφών που συνεισφέρουν στην πρόσληψη μολύβδου είναι αρκετά διαφοροποιημένη με τις άλλες χώρες, καθώς τα ψάρια αποτελούν την κύρια πηγή μολύβδου στη διατροφή των Ελλήνων καταναλωτών. Η διαφοροποίηση αυτή οφείλεται, τόσο στη μεγαλύτερη κατανάλωση ψαριών από τον ελληνικό πληθυσμό, όσο και στην αυξημένη συγκέντρωση του μολύβδου σε ορισμένα αλιεύματα (SCOOP 3.2.11, 2004).

Πρόσφατα δημοσιεύτηκε μια συμπληρωματική έρευνα από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή για την ασφάλεια των τροφίμων-EFSA ως προς την έκθεση των Ευρωπαίων καταναλωτών στο μόλυβδο. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, από το 2004 μέχρι το 2010, ο μέσος όρος διατροφικής έκθεσης στο μόλυβδο έχει ελαττωθεί σε μικρό βαθμό, από τα 296 στα 250 $\mu\text{g}/$ εβδομάδα. Οι χώρες με τη μεγαλύτερη διατροφική έκθεση είναι η Γερμανία, η Ιρλανδία και η Φινλανδία. Επισημαίνεται ότι κάποιες Ευρωπαϊκές χώρες που συμμετείχαν στην πρώτη έρευνα, όπως η Ελλάδα (SCOOP 3.2.11, 2004) δεν συμπεριλαμβάνονται στη δεύτερη έρευνα και άρα τα αποτελέσματα δεν είναι 100% συγκρίσιμα. Σχετικά με τα τρόφιμα που ευθύνονται για τη διατροφική έκθεση στο

μόλυβδο αυτά είναι τα προϊόντα για διαιτητική χρήση, τα λαχανικά, ο ζύθος και τα δημητριακά (EFSA, 2010).



Σχήμα 4.3: Εβδομαδιαία πρόσληψη μολύβδου (μg Pb/εβδομάδα) στην Ευρώπη. Με βάση τον WHO, το όριο εβδομαδιαίας πρόσληψης ανέρχεται σε 1.750 μg/εβδομάδα για ενήλικα βάρους 70 kg (SCOOP 3.2.11, 2004).

Μετά από σχετική διερεύνηση, η μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι ο μόλυβδος παρουσιάζει τοξικότητα, ακόμη και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις και επομένως η ισχύουσα εβδομαδιαία διατροφική πρόσληψη των 1.750 μg/εβδομάδα για έναν ενήλικα 70 Kg δεν μπορεί να θεωρηθεί ασφαλής (WHO, 2004). Παρόλα αυτά, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή για την Ασφάλεια των Τροφίμων δε θέτει νέο όριο, τονίζοντας όμως ότι οι τοξικολογικές επιπτώσεις του μολύβδου εμφανίζονται ακόμα και σε μικρές περιεκτικότητες μολύβδου στα τρόφιμα και επομένως η προσπάθεια όλων των Ευρωπαϊκών κρατών προς τη μείωση της έκθεσης στο μόλυβδο πρέπει να εντατικοποιηθεί, ιδιαίτερα σε ευπαθείς πληθυσμιακές ομάδες, όπως τα παιδιά (EFSA, 2010).



Κεφάλαιο 5. Υδράργυρος

5.1. Χημεία και γενικά χαρακτηριστικά

Ο υδράργυρος είναι ένα αργυρόλευκο μέταλλο με ατομικό βάρος 200,6, σημείο τήξης τους $-38,9^{\circ}\text{C}$ και σημείο βρασμού τους 357°C . Είναι το μόνο μέταλλο που συναντάται σε υγρή κατάσταση, ενώ διαστέλλεται και εξατμίζεται εύκολα. Έχει υπολογιστεί ότι η κορεσμένη ατμόσφαιρα με υδράργυρο περιέχει 18 mg Hg/m^3 στους 24°C . Παρουσία οξυγόνου, ο υδράργυρος οξειδώνεται. Τα άλατα του υδραργύρου με αλογόνα, θείο και νιτρικά είναι ευδιάλυτα στο νερό. Στα υδατικά διαλύματα, ο υδράργυρος μπορεί να υπάρχει σε τρεις οξειδωτικές καταστάσεις: Hg^0 , Hg_2^{++} και Hg^{++} . Η παρουσία του στην όποια κατάσταση εξαρτάται από το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του διαλύματος.

Οι τοξικές ενώσεις του υδραργύρου διακρίνονται σε οργανικές και ανόργανες. Ανάμεσα στις ανόργανες ενώσεις, πιο επικίνδυνες θεωρούνται οι ενώσεις δισθενούς υδραργύρου και ο στοιχειακός υδράργυρος, αν και ο τελευταίος συνήθως αποτελεί ένα ενδιάμεσο στάδιο μεταβολισμού στο σώμα. Στις οργανικές ενώσεις συναντάται, κυρίως, με τη μορφή RHg^+ και RHgR' , όπου τα R και R' συμβολίζουν το οργανικό μέρος της ένωσης. Η ένωση άνθρακα-υδράργυρου είναι αρκετά σταθερή, δεδομένου ότι ο Hg παρουσιάζει χαμηλή συγγένεια για το οξυγόνο. Οι οργανικές ενώσεις με το μεγαλύτερο τοξικολογικό ενδιαφέρον είναι ο μεθυλο-υδράργυρος, ο φαινυλο-υδράργυρος ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Hg}^+$) και ο μεθοξυ-αλκυλο-υδράργυρος.

Στη φύση ο Hg δε συναντάται σχεδόν ποτέ σε ελεύθερη μορφή, αλλά βρίσκεται δεσμευμένος σε μικρά ή μεγαλύτερα μόρια. Όλες οι ενώσεις του υδραργύρου εμφανίζουν τοξικές επιπτώσεις στα θηλαστικά και στον άνθρωπο. Η σοβαρότητα και έκταση της τοξικής επίδρασης εξαρτάται από τη μορφή της ένωσης Hg, τη χρονική

διάρκεια και τις συνθήκες έκθεσης. Οι ρίζες του υδραργύρου συνδέονται κυρίως με τις πρωτεΐνες και τα ένζυμα, με αποτέλεσμα να επηρεάζουν την ορθή λειτουργία τους. Αλλοιώσεις παρατηρούνται και στη λειτουργία των κυτταρικών μεμβρανών και άλλων σημαντικών κυτταρικών οργανιδίων. Οι τοξικολογικές ιδιότητες του υδραργύρου είναι αποτέλεσμα της σύνδεσης του Hg με τις οργανικές ενώσεις που περιέχουν μια τουλάχιστον σουλφυδρυλομάδα (-SH), πολλές από τις οποίες συναντώνται στις πρωτεΐνες. Η κύρια ένωση που ενοχοποιείται για την τοξική δράση του υδραργύρου είναι ο δεσμός Hg-θειολών (RSH), ένας αρκετά θερμοδυναμικά σταθερός δεσμός σε ένα μεγάλο εύρος pH (1-14) (Nordberg et al., 2007).

Σύμφωνα με τον Οργανισμό Προστασίας του Περιβάλλοντος των Η.Π.Α, οι κατηγορίες στις οποίες εκτίθεται ο ανθρώπινος οργανισμός είναι: 1) οργανικός υδράργυρος, κυρίως μεθυλο-υδράργυρος που απαντά σε ορισμένες τροφές, όπως τα ψάρια, ο αιθυλο-υδράργυρος που βρέθηκε σε ορισμένα συντηρητικά εμβολίων και κάποια αντισηπτικά και ο οξικός φαινυλο-υδράργυρος, που έχει χρησιμοποιηθεί σε βαφές εσωτερικού χώρου, 2) μη στοιχειακές μορφές ανόργανου υδραργύρου που εντοπίζονται κατά κύριο λόγο σε μπαταρίες, ορισμένα απολυμαντικά, και κάποια βοηθητικά μέσα για την υγεία και κρέμες και 3) στοιχειακός υδράργυρος, σε θερμομέτρα, λαμπτήρες φθορισμού, οδοντικά σφραγίσματα αμαλγάματος, και άλλες πηγές (WHO, 2007).

5.2. Ιστορική αναδρομή

Με ιδιαίτερο ενδιαφέρον, λόγω της ασημένιας απόχρωσης και υγρής μορφής του, ο υδράργυρος ήταν γνωστός στους αρχαίους Έλληνες, Ρωμαίους, Κινέζους και Ινδούς. Κάθε πολιτισμός έχει τους δικούς της θρύλους σχετικά με τον υδράργυρο. Στην αρχαιότητα χρησιμοποιήθηκε σε πληθώρα προϊόντων, όπως είναι τα φάρμακα, τα οικιακά αντικείμενα και τα φυλαχτά. Χημικό σύμβολο του Ερμή, Hg, η λατινική ονομασία του υδράργυρου "hydrargyrum" προέρχεται από τις ελληνικές λέξεις "ύδωρ" και "άργυρος". Είναι επίσης γνωστός ως "quicksilver", με αναφορά στην υγρή μορφή και στην κινητικότητά του.

Στην αρχαία τέχνη της αλχημείας, ο υδράργυρος, το θείο και το αλάτι ήταν τα τρία βασικότερα στοιχεία. Η λέξη Hindu για την αλχημεία είναι "Rasasiddhi", σημαίνει "γνώση του υδραργύρου." Θεωρώντας ότι ο υδράργυρος ήταν στο επίκεντρο όλων των

μετάλλων, οι αλχημιστές πίστευαν ότι ο χρυσός, το ασήμι, ο χαλκός, ο κασσίτερος, ο μόλυβδος και ο σίδηρος ήταν όλα μίγματα υδραργύρου και άλλων ουσιών. Ένα από τα κεντρικά δόγματα της ευρωπαϊκής αλχημείας ήταν η πεποίθηση ότι ο σωστός συνδυασμός του υδραργύρου και άλλων συστατικών οδηγούσε στην παραγωγή του χρυσού. Αν και οι μυστικιστικές ιδιότητες του υδραργύρου σχετίζονταν με την απόκτηση του πλούτου και την κατάληψη της εξουσίας, ακόμη και οι αρχαίοι, γνώριζαν ότι το στοιχείο αυτό είναι τοξικό. Η συσχέτισή του με την υγεία του ανθρώπου έγινε στα πρώτα μεταλλεία εξόρυξης του στοιχείου και πολλές φορές αναφέρονται σοβαρές ψυχικές διαταραχές των εργαζομένων σε αυτά. Ως μεγαλύτερη φυσική πηγή υδραργύρου χρησιμοποιείται το ορυκτό κινναβαρίτης (θειούχος υδράργυρος-HgS), τα πλουσιότερα κοιτάσματα του οποίου βρίσκονται στην Ισπανία και την Ιταλία. Οι Ρωμαίοι χρησιμοποίησαν τα μεταλλεία υδραργύρου ως σωφρονιστικά ιδρύματα για τους εγκληματίες, τους σκλάβους, και άλλους ανεπιθύμητους. Οι δεσμοφύλακες ήταν οι πρώτοι που είχα αναγνωρίσει ότι οι κρατούμενοι δηλητηριάζονταν πριν τις επίσημες εκτελέσεις.

Η γραμμή μεταξύ της αλχημείας και της ιατρικής δεν ήταν πάντοτε σαφής. Τον 2^ο αιώνα στην Κίνα, η ενασχόληση με τον υδραργύρο επικεντρώνεται σε μια αναζήτηση για ένα ελιξήριο της ζωής για μακροζωία ή αθανασία. Στην εποχή πριν τα αντιβιοτικά, τα σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα ήταν θανατηφόρα. Στην απεγνωσμένη αναζήτηση για θεραπεία, δοκιμάστηκαν διάφορες μορφές του υδραργύρου. Η χρήση της θεραπείας υδραργύρου συνεχίστηκε στις αρχές του 20ου αιώνα. Βιομηχανικά ο υδράργυρος ξεκινά να χρησιμοποιείται στα μέσα του 17^{ου} αιώνα, σε βιομηχανίες παραγωγής υλικών και αντικειμένων από τσόχα. Η χρήση του υδραργύρου εντατικοποιείται τον εικοστό αιώνα, στην παραγωγή πληθώρας χημικών υλικών, με αποτέλεσμα να αυξηθούν οι εκπομπές υδραργύρου στο περιβάλλον, λόγω των μεταλλείων εξόρυξης. Παράλληλα αρχίζουν να καταγράφονται και μαζικά φαινόμενα δηλητηρίασης από απόβλητα βιομηχανιών, όπως το 1958 στην Minamata της Ιαπωνίας με το θάνατο 68 ανθρώπων και την εμφάνιση νευρολογικών συμπτωμάτων σε άλλους 397 κατοίκους. Από το 1941, ξεκινούν οι πρώτες απαγορεύσεις χρήσης του υδραργύρου στην παραγωγή αντικειμένων, όπως στα καπέλα τσόχας, από τις αρχές των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής (Sloane, 2012).

5.3. Ο υδράργυρος στο περιβάλλον

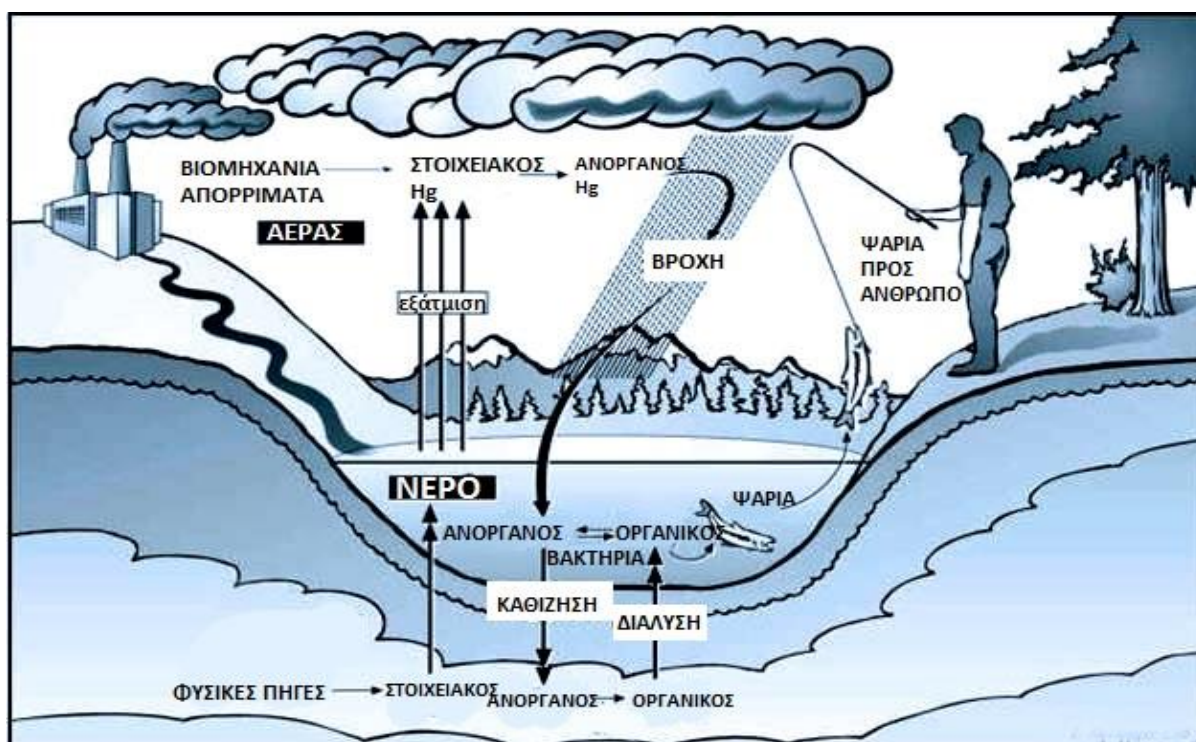
Ο υδράργυρος είναι ένα φυσικό στοιχείο. Η παρουσία του στο περιβάλλον είναι αποτέλεσμα απελευθέρωσης από φυσικές πηγές, όπως τα ηφαιστεια και από τις ανθρώπινες δραστηριότητες, όπως είναι η βιομηχανική καύση και η δραστηριότητα των ορυχείων. Οι ανθρώπινες δραστηριότητες έχουν αυξήσει κατακόρυφα την ποσότητα του υδραργύρου που είναι διαθέσιμη στην ατμόσφαιρα, στα εδάφη, σε ιζήματα, λίμνες, ποταμούς και ωκεανούς. Ενώ ο στοιχειακός υδράργυρος είναι τοξικός για τον άνθρωπο, όταν εισπνέεται ή καταπίνεται, η μορφή του μετάλλου που είναι περισσότερο ανησυχητική είναι ο μεθυλοϋδράργυρος, καθώς αποτελεί μια άκρως δραστική μορφή του μετάλλου και είναι η κύρια μορφή έκθεσης του ανθρώπου (WHO, 2007). Οι κύριες πηγές έκλυσης υδραργύρου στον αέρα, το νερό, τα εδάφη και ιζήματα μπορούν να ομαδοποιηθούν σε τέσσερις κατηγορίες:

1. Νέα προσθήκη από πηγές φυσικής προέλευσης, όπως η ηφαιστειακή δραστηριότητα και η αποσάθρωση των πετρωμάτων
2. Επαναελευθέρωση του υδραργύρου που είναι δεσμευμένος μέσω φυσικών και ανθρωπογενών διεργασιών σε εδάφη, ιζήματα, τα υδατικά συστήματα, τους χώρους υγειονομικής ταφής, τα απόβλητα και τα απορρίμματα / σωρούς (ονομάζονται επίσης πηγές επανέκλυσης υδραργύρου)
3. Νέα έκλυση ενώσεων υδραργύρου από την καύση των ορυκτών καυσίμων και από την τήξη των μετάλλων, όπως είναι ο χρυσός και ο ψευδάργυρος
4. Νέα έκλυση ενώσεων υδραργύρου που προκύπτουν από τη χρήση του υδραργύρου σε προϊόντα και σε διαδικασίες βιομηχανικής παραγωγής, όπως είναι η βιομηχανία παραγωγής χλωρίου-αλκαλίων.

Η παγκόσμια παραγωγή υδραργύρου ανέρχονταν το 1975 στους 9.000 τόνους αλλά μειώθηκε ραγδαία τη δεκαετία του 1990, λόγω της απαγόρευσης χρήσης του σε πολλά προϊόντα και της προσπάθειας ασφαλούς ανακύκλωσης από βιομηχανικούς καταλύτες και οικιακά υλικά. Το κόκκινο θειούχο άλας του υδραργύρου, γνωστό και ως κινναβαρίτης (cinnabar), αποτελεί το κύριο ορυκτό εξόρυξης του μετάλλου. Το 2003 καταγράφηκε μια ετήσια παγκόσμια παραγωγή στοιχειακού υδραργύρου λιγότερη από 2.000 τόνους, εκτιμάται όμως ότι η παγκόσμια έκλυση υδραργύρου από όλες τις ανθρωπογενείς δραστηριότητες ανήλθε συνολικά σε 9.250 τόνους. Το 1980, οι

κυριότερες βιομηχανικές χρήσεις του υδραργύρου αφορούσαν τις μπαταρίες (1.052 μετρικοί τόνοι), στη βιομηχανία χλωρίου-αλκαλίων (358 μετρικοί τόνοι), και στη βιομηχανία ελαιοχρωμάτων (326 μετρικοί τόνοι). Το 2001, οι κυρίαρχες χρήσεις του υδραργύρου σε προϊόντα αφορούσαν διακόπτες και συστήματα καλωδίων, όργανα μέτρησης και ελέγχου, οδοντιατρικά αμαγάλματα και ηλεκτρικά συστήματα φωτισμού (21 μετρικοί τόνοι) (USGS, 2006).

Τα αλιεύματα αποτελούν την κύρια πηγή διατροφικής πρόσληψης υδραργύρου. Ορισμένα άτομα μπορούν να εκτίθενται σε επιβλαβή επίπεδα ατμών υδραργύρου στα σπίτια και τους χώρους εργασίας. Στον αέρα, ο στοιχειακός υδράργυρος εξατμίζεται και μπορεί να εισπνευστεί. Εσφαλμένος χειρισμός του υδραργύρου στα σχολεία, εργαστήρια και εργοστάσια παραγωγής μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές συνέπειες στους πνεύμονες, το γαστρεντερικό και το νευρικό σύστημα. Ο κύκλος του υδραργύρου παρουσιάζεται σε απλοποιημένη μορφή στο σχήμα 5.1.



Σχήμα 5.3. Ο βιογεωχημικός κύκλος του υδραργύρου (ΥΤΑΗ, 2013).

Ο υδράργυρος στο περιβάλλον ανακυκλώνεται, μέσω του βιογεωχημικού κύκλου (σχήμα 5.1). Ο κύκλος έχει έξι βασικά στάδια:

1. Εξάτμιση του υδραργύρου από πετρώματα, εδάφη και επιφανειακά ύδατα ή

εκπομπές του από τα ηφαίστεια και τις ανθρώπινες δραστηριότητες.

2. Κίνησή του σε αέρια μορφή μέσα στην ατμόσφαιρα.
3. Εναπόθεσή του στο έδαφος και τα επιφανειακά ύδατα.
4. Μετατροπή σε αδιάλυτο θειούχο υδραργύρο.
5. Καθίζηση ή βιομετατροπή του σε πιο ασταθείς ή διαλυτές μορφές, όπως μεθυλο-υδράργυρο.
6. Είσοδος εκ νέου στην ατμόσφαιρα ή βιοσυσσώρευση στην τροφική αλυσίδα (UTAH, 2013).

5.4. Πηγές έκθεσης και επιπτώσεις

Οι άνθρωποι μπορεί να εκτίθενται στον υδράργυρο σε οποιαδήποτε από τις χημικές μορφές του και κάτω από διαφορετικές συνθήκες. Σχεδόν όλοι οι άνθρωποι έχουν τουλάχιστον ίχνη μεθυλο-υδραργύρου στους ιστούς τους, αντανακλώντας την ευρεία παρουσία μεθυλοϋδράργυρου στο περιβάλλον. Το μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού εκτίθεται κυρίως σε μεθυλοϋδράργυρο από την κατανάλωση ιχθυηρών και οστρακοειδών. Αν η έκθεση αυτή είναι ικανή να βλάψει την υγεία ενός ατόμου εξαρτάται από ένα σύνολο διαφορετικών παραγόντων. Οι παράγοντες που καθορίζουν την σοβαρότητα των επιπτώσεων στην υγεία είναι:

- Χημική μορφή του υδραργύρου
- Δόση έκθεσης
- Ηλικία του ατόμου που εκτίθεται
- Διάρκεια της έκθεσης
- Οδός έκθεσης(εισπνοή, κατάποση, δερματική επαφή, κλπ)
- Κατάσταση της υγείας του ατόμου που εκτίθεται (EPA, 2012);

Όταν ένα άτομο έχει εκτεθεί σε υδράργυρο, ένα ορισμένο ποσοστό απορροφάται, ανάλογα με την οδό της έκθεσης και τη μορφή του υδραργύρου. Περίπου το 80% του στοιχειακού υδραργύρου απορροφάται όταν εισπνέεται, ωστόσο, λιγότερο από το 1% του προσλαμβανόμενου με την κατάποση στοιχειακού υδραργύρου τελικά απορροφάται. Ο μεθυλοϋδράργυρος, από την άλλη πλευρά, απορροφάται εύκολα, ανεξάρτητα από την οδό έκθεσης. Περίπου το 95% του προσλαμβανόμενου με διατροφή μεθυλοϋδράργυρου μπορεί να απορροφηθεί στο σώμα. Τόσο ο στοιχειακός, όσο και ο μεθυλοϋδράργυρος μπορεί να διαπεράσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και

τον φραγμό του πλακούντα. Τα όργανα που επηρεάζονται περισσότερο είναι ο εγκέφαλος και τα νεφρά. Μέσα στο σώμα, οι νεφροί συσσωρεύουν τις μεγαλύτερες ποσότητες όλων των μορφών του υδραργύρου, αλλά ο υδράργυρος μπορεί επίσης να συσσωρευτεί στον εγκέφαλο, το κεντρικό νευρικό σύστημα, στο ήπαρ και στα περισσότερα ζωτικά όργανα του σώματος.

Ο υδράργυρος απεκκρίνεται κυρίως από το σώμα με τα ούρα και τα περιττώματα, αλλά συνήθως σε ένα βραδύτερο ρυθμό από ό, τι εκείνο της πρόσληψης, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση του υδραργύρου στους ιστούς. Ο υδράργυρος εναποτίθεται στα μαλλιά, καθώς μεγαλώνουν και μπορεί επίσης να βρεθεί στο μητρικό γάλα ή να περάσει στο έμβρυο μέσω του πλακούντα. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε υψηλές συγκεντρώσεις σε βρέφη των οποίων οι μητέρες είναι ιδιαίτερα εκτεθειμένες (UTAH, 2013).

Η έκθεση σε υδράργυρο θεωρείται ιδιαίτερα επικίνδυνη για τα έμβρυα, τα βρέφη και τα παιδιά. Η κύρια επίπτωση στην υγεία είναι η μειωμένη νευρολογική ανάπτυξη. Έκθεση του εμβρύου στη μήτρα, η οποία οφείλεται από την κατανάλωση ψαριών και οστρακοειδών από τη μητέρα, μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ανάπτυξη του εγκεφάλου ενός μωρού και το νευρικό σύστημα. Αρνητικές επιπτώσεις στη νόηση, τη μνήμη, την προσοχή, την προφορική γλώσσα, σε κινητικές και οπτικές δεξιότητες έχουν παρατηρηθεί σε παιδιά που έχουν εκτεθεί σε μεθυλο-υδράργυρο στη μήτρα. (EPA, 2006). Για αυτό τον λόγο, έχουν εκδοθεί οδηγίες περιορισμού κατανάλωσης συγκεκριμένων ιχθυηρών, όπως ο ξιφίας και ο τόνος, σε εγκυμονούσες, θηλάζουσες και μικρά παιδιά (JECFA, 2006).

Η έκθεση στον υδράργυρο μπορεί να προκαλέσει νευρολογικές και γαστρεντερικές διαταραχές ακόμα και στους ενήλικες. Υψηλή έκθεση σε υδράργυρο μπορεί να οδηγήσει σε βλάβη του γαστρεντερικού σωλήνα, του νευρικού συστήματος, και των νεφρών. Έκθεση σε υψηλότερες συγκεντρώσεις μπορεί προκαλέσει βλάβες στους νεφρούς, σοβαρή αναπνευστική ανεπάρκεια και θάνατο. Επομένως, τα επίπεδα υδραργύρου και μεθυλο-υδραργύρου στα τρόφιμα πρέπει να είναι τα μικρότερα δυνατά. Το ισχύον εβδομαδιαίο ανεκτό όριο για την έκθεση στον υδράργυρο ανέρχεται σε 1,6 μg μεθυλο-υδραργύρου/kg σωματικού βάρους, και είναι ίσο με 112 μg μεθυλο-υδραργύρου/εβδομάδα για ένα άτομο που ζυγίζει 70 κιλά (JECFA, 2006).

Σχετικά με την εκτίμηση της διατροφικής έκθεσης του Ελληνικού πληθυσμού στον υδράργυρο τα επιστημονικά δεδομένα είναι περιορισμένα. Σε μελέτη που δημοσιεύτηκε το 1998 και αφορούσε την περιεκτικότητα των λαχανικών σε περιοχές γύρω από τη βιομηχανική ζώνη της Θεσσαλονίκης σε βαρέα μέταλλα βρέθηκε ότι τα λαχανικά δεν περιέχουν υδράργυρο σε αυξημένες ποσότητες και η διατροφική πρόσληψη από την κατανάλωση των λαχανικών είναι αρκετά χαμηλότερη από την εβδομαδιαία ανεκτή πρόσληψη (Voutsas and Samara, 1998).

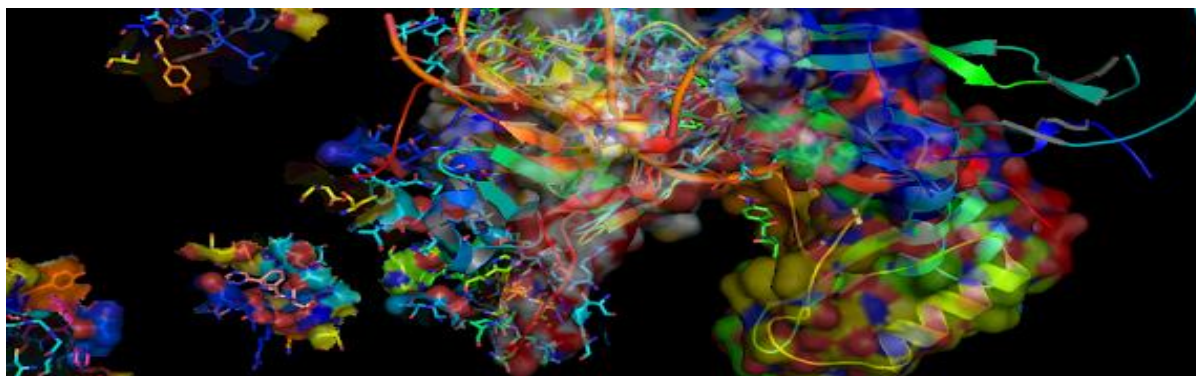
Μια μεταγενέστερη μελέτη που διεξήχθη στην Ιταλία έδειξε ότι ορισμένα αλιεύματα, όπως τα είδη *Micromesistius roulei*, *Phycis blennoides*, *Trachurus trachurus*, *Rochei rochei* και *Merluccius merluccius* παρουσίασαν περιεκτικότητα σε υδράργυρο μεγαλύτερη από τα ανώτατα όρια και επομένως η συστηματική κατανάλωσή τους μπορεί να οδηγήσει σε υπέρβαση του ορίου διατροφικής έκθεσης. Κάτι ανάλογο δεν παρατηρήθηκε για το κάδμιο και τον μόλυβδο (Marcotrigiano and Storelli, 2003). Μια διαφορετική μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε 26 διαφορετικά είδη αλιευμάτων από την Αδριατική θάλασσα έδειξε ότι η διατροφική έκθεση του πληθυσμού λόγω της κατανάλωσης των περισσότερων ψαριών δεν εμπνέει ανησυχία. Εξαίρεση αποτελούν μεμονωμένα αλιεύματα, όπως ο τόνος και το κοκκινόψαρο του Ατλαντικού, τα οποία συνεισφέρουν σημαντικά στη διατροφική πρόσληψη του υδραργύρου και θα πρέπει να παρακολουθούνται τακτικά (Storelli, 2008).

Στην Ισπανία, δύο μελέτες που δημοσιεύτηκαν το 2003 και το 2008 στον πληθυσμό της Καταλονίας κατέληξαν στο ίδιο συμπέρασμα: ότι η διατροφική έκθεση στον υδράργυρο είναι κάτω από το θεσμοθετημένο όριο της εβδομαδιαίας πρόσληψης και κυμαίνεται μεταξύ 40-50% της ανεκτής εβδομαδιαίας πρόσληψης. Ο υδράργυρος στα τρόφιμα προέρχεται κυρίως από τα αλιεύματα, ενώ κατά ένα μικρό ποσοστό συνεισφέρουν τα έλαια και τα δημητριακά (Llobet et al., 2003, Marti-Cid et al., 2008). Πάντως, σε πρόσφατη μελέτη στην Καταλονία της Ισπανίας βρέθηκε ότι σημαντική πηγή διατροφικής έκθεσης στον υδράργυρο αποτελούν εκτός από τα νωπά και τα κονσερβοποιημένα ψάρια, τα οποία συνεισφέρουν κατά 36,3% στη συνολική πρόσληψη υδραργύρου από την κατανάλωση θαλασσινών. Στα κονσερβοποιημένα τρόφιμα πρωταγωνιστεί ο τόνος, ο οποίος, λόγω της συχνής κατανάλωσης και των αυξημένων επιπέδων υδραργύρου, αποτελεί την κυριότερη πηγή υδραργύρου από όλα

τα είδη αλιευμάτων που καταναλώνονται από τον πληθυσμό της Καταλονίας (Rodellar et al., 2010).

Διερεύνηση για την έκθεση των Ελλήνων και Ευρωπαίων καταναλωτών στον υδράργυρο πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο του προγράμματος SCOOP το 2004. Τα ελληνικά δεδομένα αφορούσαν μόνο σε ψάρια και θαλασσινά και πιθανώς να υποεκτιμήθηκε το πραγματικό μέγεθος έκθεσης στον υδράργυρο. Λαμβάνοντας όμως υπόψη ότι ο υδράργυρος απαντάται κυρίως στα προϊόντα ψαριών και αλιείας, η εβδομαδιαία πρόσληψη υδραργύρου για τον Ελληνικό πληθυσμό εκτιμήθηκε κατά προσέγγιση στα 36 μg . Η πρόσληψη αυτή είναι χαμηλότερη από τον μέσο όρο πρόσληψης υδραργύρου των κρατών μελών της ΕΕ. Μεγαλύτερη πρόσληψη υδραργύρου, βάσει των αποτελεσμάτων της έρευνας, παρουσιάστηκε στην Πορτογαλία, τη Δανία, την Ιταλία και τη Γαλλία (SCOOP 3.2.11, 2004).

Το 2008 δημοσιεύτηκαν αποτελέσματα από σχετική έρευνα που έγινε σε 13 κράτη-μέλη πάνω στα επίπεδα του υδραργύρου σε ψάρια ανοιχτής θάλασσας και ιχθυοκαλλιέργειας, σε ορισμένα πρόσθετα τροφίμων και διαιτητικά συμπληρώματα. Η έρευνα έδειξε ότι τα είδη ψαριών ανοιχτής θάλασσας που είναι χαμηλά στην τροφική αλυσίδα έχουν περιεκτικότητα σε υδραργύρο συνήθως μικρότερη από 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ενώ τα μεγάλα ψάρια μέχρι και 1.000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Τα ψάρια ιχθυοκαλλιέργειας περιέχουν ολικό υδράργυρο μεταξύ 8 έως 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ενώ πιο υψηλά επίπεδα έχουν βρεθεί στον εκτρεφόμενο τόνο. Βάσει των αποτελεσμάτων της έρευνας, δεν παρατηρήθηκε υπέρβαση του εβδομαδιαίου όριου των 1,6 μg μεθυλο-υδραργύρου/kg βάρους στα κράτη μέλη που συμμετείχαν στην έρευνα, ωστόσο πρέπει να δίνεται προσοχή στο σχολαστικό έλεγχο των ψαριών από ιχθυοκαλλιέργεια (SCOOP 3.2.11, 2004).



Κεφάλαιο 6. Μεταλλοθειονίνες

6.1. Ορισμός και χημικά χαρακτηριστικά

Οι μεταλλοθειονίνες (MT) αποτελούν μια οικογένεια πρωτεϊνών μικρού μοριακού βάρους, με χαρακτηριστική χημική δομή που τις επιτρέπει να δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα. Από τη δεκαετία του 1950 που ανακαλύφθηκαν μέχρι σήμερα, οι μεταλλοθειονίνες έχουν εντοπιστεί και μελετηθεί σε πληθώρα κυττάρων διαφορετικών οργανισμών. Οι μεταλλοθειονίνες έχουν μελετηθεί τόσο σε θηλαστικά όσο και σε μη θηλαστικά, σε ανώτερα φυτά και σε ορισμένους προκαρυωτικούς οργανισμούς (Zalups and Koropatnick, 2000, Henkel and Krebs, 2004). Τα κύρια χημικά χαρακτηριστικά των μεταλλοθειονινών δίνονται στον πίνακα 6.1. Το βασικότερο στοιχείο της δομής τους είναι η μεγάλη αναλογία του αμινοξέος κυστεΐνη στο σύνολο των αμινοξέων. Το αμινοξύ κυστεΐνη αποτελεί περίπου το 30% των 62 αμινοξέων στις μεταλλοθειονίνες των θηλαστικών (Nordberg, 1998). Από τα μόρια των μεταλλοθειονινών απουσιάζουν τα αρωματικά αμινοξέα, η ιστιδίνη και η μεθειονίνη (Viarengo and Nott, 1993).

Ο τρόπος σύνδεσης των αμινοξέων Cys-Cys, Cys-X-Cys και Cys-X-Y-Cys είναι αυτός που οδηγεί σε πολλές ισομορφές της ίδιας πρωτεΐνης (Amiard et al., 2006). Ο σχηματισμός των εν λόγω δομών της κυστεΐνης είναι αυτός που επιτρέπει τη δέσμευση των μετάλλων στο μόριο της πρωτεΐνης, με σχηματισμό συμπλόκου μεταξύ μετάλλου-σουλφιδρυλομάδας (Viarengo and Nott, 1993). Η ικανότητα των MT να δεσμεύουν τα μέταλλα διαφέρει ανάλογα με το είδος του μετάλλου. Ο χαλκός παρουσιάζει τη μεγαλύτερη σταθερότητα, ακολουθούμενος από το κάδμιο και τον ψευδάργυρο. Μέχρι και 18 διαφορετικά μέταλλα μπορούν να δεσμευτούν από τις μεταλλοθειονίνες, αλλά μόνο τα κατιόντα Cu^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+ , Hg^{2+} και Bi^{3+} μπορούν να αντικαταστήσουν τον

Zn (Coyle et al., 2002). Οι μεταλλοθειονίνες μπορούν να δεσμεύσουν μέχρι 7 δισθενή κατιόντα ή μέχρι 12 μονοσθενή κατιόντα.

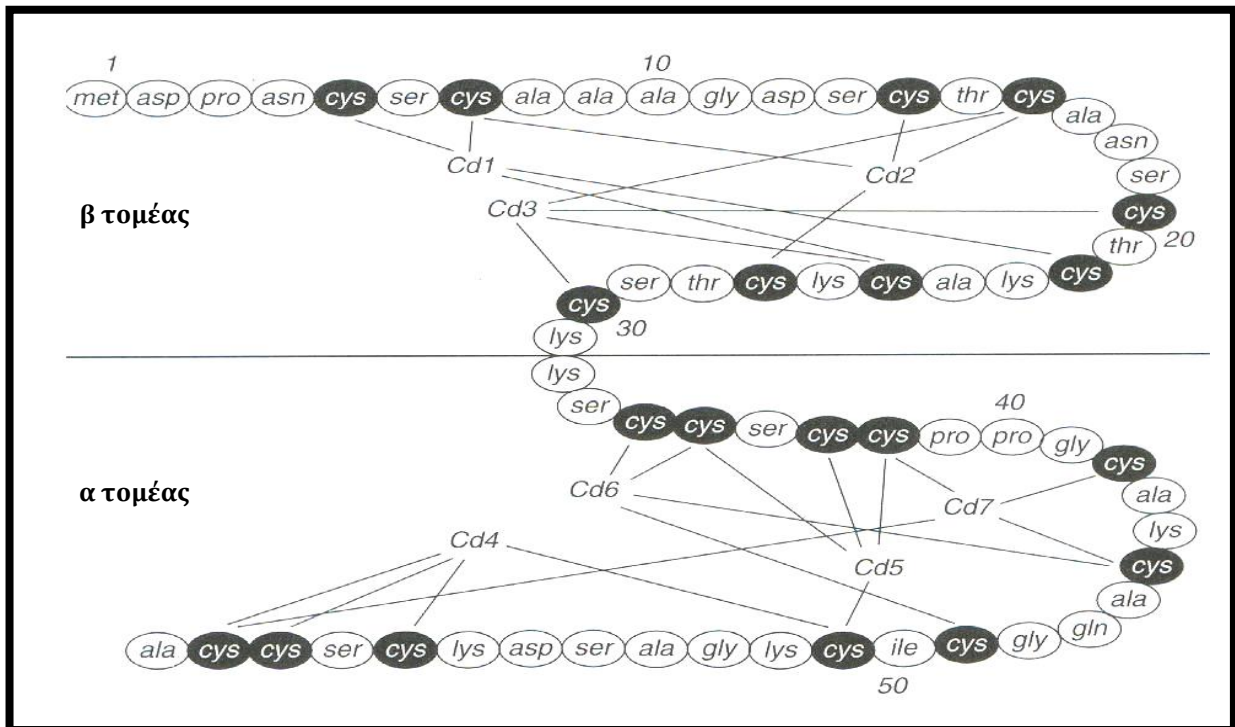
Ανάλογα με το δεσμευμένο μέταλλο διαφέρει και ο χρόνος ημιζωής της πρωτεΐνης. Η δέσμευση με το κάδμιο έχει ως αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη διάρκεια ημιζωής που φτάνει τις 80 ώρες, ενώ αντίθετα τα σύμπλοκα με ψευδάργυρο και χαλκό δίνουν χρόνο ημιζωής τις 20 και 17 ώρες αντίστοιχα. Ο ρυθμός αποικοδόμησης εξαρτάται επίσης από το είδος του οργανισμού και τη διασπορά των διαφορετικών μετάλλων στο σύμπλοκο πρωτεΐνης-μετάλλων. Η αποικοδόμηση γίνεται με τη βοήθεια ενζύμων, όπως η καθειψίνη (Coyle et al., 2002).

Πίνακας 6.1. Χαρακτηριστικά των μεταλλοθειονινών (Nordberg, 1998).

1. Μοριακό βάρος: 6000-7000
2. Υψηλή περιεκτικότητα σε κυστεΐνη (30%), N-ακετυλομεθειονίνη, C-αλανίνη
3. Μοναδική ακολουθία αμινοξέων (απουσία αρωματικών αμινοξέων, απουσία ιστιδίνης)
4. Χαρακτηριστική τριτοταγής δομή των συμπλόκων με μέταλλα
5. Περιεχόμενο σε μέταλλα (Cd, Zn, Cu, Hg): 5-10% w/w
6. Απορρόφηση σε χαρακτηριστικό μήκος κύματος ανάλογα με το μέταλλο: 225 nm(Zn), 250 nm(Cd), 275 nm (Cu), 300 nm (Hg)
7. Η σύνθεσή τους επάγεται από το Cd και τον Zn
8. Απουσία δισουλφιδικών δεσμών
9. Θερμική σταθερότητα
10. Εντοπισμός στο κυτταρόπλασμα
11. Ισομορφές
12. Εντοπισμός στο χρωματόσωμα

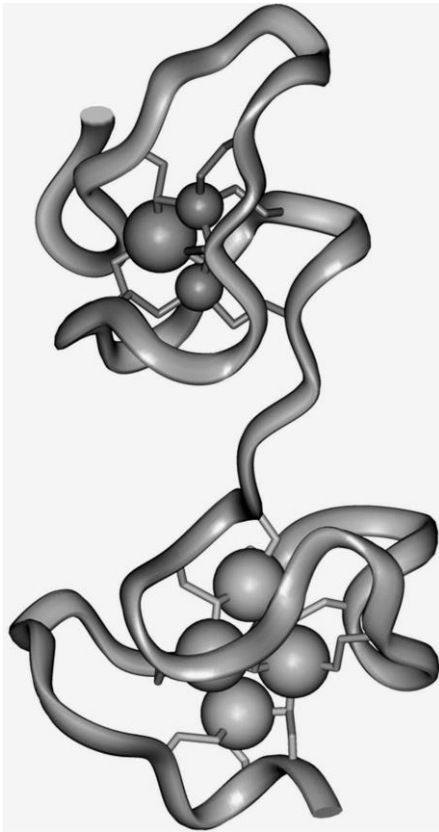
Στη μοριακή δομή των MT παρατηρούνται δύο διακριτές περιοχές δέσμευσης των μετάλλων, οι οποίες ονομάζονται τομέας α στο καρβοξυ- τελικό άκρο και τομέας β στο αμινο- τελικό άκρο του μορίου (σχήμα 6.1). Ο κάθε τομέας περιέχει 31 αμινοξέα. Τρία ιόντα μετάλλων συγκρατούνται στο β τομέα και τέσσερα στον α τομέα. Ο β τομέας ως πιο ασταθής, δίνει στη πρωτεΐνη μια δυναμική γρήγορης ανταλλαγής ιόντων, ακόμη και με άλλα είδη πρωτεϊνών (Coyle et al., 2002). Στο μόριο της μεταλλοθειονίνης μπορούν και συνδέονται ταυτόχρονα πολλά διαφορετικά άτομα

μετάλλων, όπως άτομα Cu, Zn, Cd, Hg και Ag, εφόσον αυτά είναι παρόντα (Amiard et al., 2006).



Σχήμα 6.1. Πρωτοταγής δομή μεταλλοθειονίνης (ισομορφή 2A). Το κάδμιο δεσμεύεται στους δύο τομείς, α και β οι οποίοι αποτελούνται από 31 αμινοξέα ο καθένας. Το μόριο είναι συνδεδεμένο συνολικά με 7 άτομα Cd. (Zalups and Koropatnick, 2000).

Ο σχηματισμός Scys-M-Scys δεσμών σε διάφορα διαγώνια, τριγωνικά ή τετραεδρικά σχήματα καταλήγει σε μια τρισδιάστατη δομή με εσωτερικές περιοχές δέσμευσης μετάλλων, οι οποίες περιβάλλονται από ένα υδρόφιλο τμήμα της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Η αρχιτεκτονική της δομής των πρωτεϊνών εξαρτάται από το είδος των μετάλλων που δεσμεύονται στο μόριο. Η τρισδιάστατη δομή διαφόρων ενώσεων μεταλλοθειονινών και μετάλλων παρουσιάστηκε από τον Henkel και Krebs (2004). Στο σχήμα 6.2. απεικονίζεται η τρισδιάστατη τριτοταγής δομή μιας μεταλλοθειονίνης. Η τριτοταγής δομή δίνει χαρακτηριστικές ιδιότητες στην ομάδα των μεταλλοθειονινών, όπως είναι η θερμοανθεκτικότητα και η ικανότητα γρήγορης δέσμευσης και απομάκρυνσης μετάλλων από το μόριό τους, με συνέπεια τον υψηλό ρυθμό κινητικότητας των μετάλλων μεταξύ των MT και άλλων μεταλλοπρωτεϊνών.



Οι μεταλλοθειονίνες έχουν ομαδοποιηθεί σε τρεις μεγάλες κατηγορίες. Η κατηγορία I περιλαμβάνει τις μεταλλοθειονίνες, όπου η κυστεΐνη σχηματίζει δεσμούς όμοια με τις MT στον ιστό του νεφρού του αλόγου. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν οι μεταλλοθειονίνες των θηλαστικών. Όλες οι MT της κατηγορίας I συνδέονται με τα μέταλλα της ομάδας 12 του περιοδικού πίνακα, όπου συναντώνται και παρόμοιες ακολουθίες αμινοξέων (με τη μορφή Cys-X-Cys και Cys-X-X-Cys). Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν οι μεταλλοθειονίνες κάποιων μαλακίων και οστρακοειδών, όπως τα μύδια, τα στρείδια, ο κάβουρας και ο αστακός (Amiard et al., 2006).

Σχήμα 6.2. Τρισδιάστατη απεικόνιση της δομής μιας μεταλλοθειονίνης. Τα αμινοξέα 1-30 περικλείουν ένα σύμπλεγμα Cys, Cd, Zn στον αμινο-τελικό τομέα β και τα αμινοξέα 31-61 ένα σύμπλεγμα Cys, Cd στον καρβοξυ-τελικό τομέα α (Zalups and Koropatnick, 2000).

Στην κατηγορία II ανήκουν οι μεταλλοθειονίνες που απομονώθηκαν από μύκητες και ζύμες. Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει MT που παρουσιάζουν καμιά ή πολύ μακρινή ομοιότητα στις μορφές MT θηλαστικών (π.χ. σιτάρι, ζύμες και κάποιους προκαρυωτικούς μικροοργανισμούς). Η βασική διαφορά από την κατηγορία I είναι η μισή περιεκτικότητα του μορίου σε κυστεΐνη, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη σύσταση ενός και μοναδικού τομέα σύνδεσης με μέταλλα. Την κατηγορία III αποτελούν γ-γλουταμινο-κυστεινο-ισοπεπτίδια (γ-EC πεπτίδια), τα οποία απαντώνται σε διάφορα είδη, συμπεριλαμβανομένων των ζυμών (για παράδειγμα *Schizosaccharomyces pombe*) και των φυτών. Τα πεπτίδια αυτά δεσμεύουν τα μέταλλα Zn(II), Cd(II) και Cu(I). Από τις τρεις κατηγορίες έχει μελετηθεί περισσότερο η κατηγορία I και ιδιαίτερα η MT του ήπατος του λαγού. Είναι χαρακτηριστικό ότι ανάμεσα στις MT της κατηγορίας I υπάρχει μεγάλη ομοιότητα ως προς την ακολουθία των αμινοξέων, κάτι που έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση παρόμοιων ιδιοτήτων, όπως είναι η αποθήκευση, η μεταφορά και διανομή των απαραίτητων μετάλλων, καθώς και η απομάκρυνση των

τοξικών μετάλλων. Οι MT εμφανίζουν επίσης ίδια προφίλ δέσμευσης μετάλλων και έκφρασης των σχετικών γονιδίων (Zalups and Koropatnick, 2000). Εκτός από αυτόν τον τρόπο διάκρισης έχει προταθεί και ένα νέο είδος ταξινόμησής τους, βάσει φυλογενετικών χαρακτηριστικών, το οποίο χωρίζει τις μεταλλοθειονίνες της κατηγορίας I και II σε 15 οικογένειες (Amiard et al., 2006).

6.2. Λειτουργικός ρόλος

Το γεγονός ότι οι μεταλλοθειονίνες έχουν εντοπιστεί σε μια πληθώρα οργανισμών διατηρώντας σταθερά τα χημικά τους χαρακτηριστικά στη διάρκεια του χρόνου οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι μεταλλοθειονίνες είναι απαραίτητες για πολλές ζωτικές λειτουργίες (Amiard et al., 2006). Η πλήρης βιολογική λειτουργία των μεταλλοθειονινών δεν έχει ακόμα σαφώς διευκρινιστεί, αλλά μέσα από συστηματικές μελέτες έχουν αποσαφηνιστεί ορισμένοι λειτουργικοί ρόλοι (Vašák and Hasler, 2000). Είναι πλέον αποδεκτό ότι οι μεταλλοθειονίνες εκπληρώνουν διεργασίες πρωτεϊνικού χαρακτήρα και εξειδικεύονται ανάλογα με το είδος του οργανισμού και τις τρέχουσες ανάγκες του (Coyle et al., 2002). Η συμπεριφορά των μεταλλοθειονινών στον οργανισμό βασίζεται κυρίως στη χημεία της $-SH$ που δίνει τη δυνατότητα στις MT να δεσμεύουν διάφορα μεταλλικά ιόντα (Amiard et al., 2006).

Ο πρώτος και σημαντικότερος ίσως λειτουργικός ρόλος των MT είναι ο έλεγχος της ομοιόστασης πολλών απαραίτητων μετάλλων, όπως είναι ο ψευδάργυρος και ο χαλκός. Οι MT αποτελούν έναν χώρο αποθήκευσης των δύο αυτών στοιχείων, δίνοντας έτσι στον οργανισμό τη δυνατότητα να προσφέρει άμεσα μεταλλικά ιόντα για πολλές μεταβολικές λειτουργίες. Οι MT εμπλέκονται στη μεταβολική ρύθμιση του ψευδαργύρου, ο οποίος αποτελεί δομικό συστατικό για πάνω από 300 ένζυμα (Coyle et al., 2002). Επιπλέον, ο ψευδάργυρος εμπλέκεται και στη μεταγραφή του DNA και έτσι οι μεταλλοθειονίνες συμμετέχουν έμμεσα στη ρύθμιση και αυτής της αναβολικής λειτουργίας (Vašák and Hasler, 2000).

Μια λειτουργική δράση των μεταλλοθειονινών που έχει μελετηθεί διεξοδικά σε πολλά και διαφορετικά είδη, αποτελεί η μείωση της τοξικής δράσης των βαρέων μετάλλων. Πολλές και διαφορετικές πειραματικές μελέτες επιβεβαίωσαν την προστατευτική δράση των MT στην έκθεση διαφόρων ειδών σε βαρέα μέταλλα (πίνακας 6.2). Αρχικά, η ερευνητική ομάδα των Dennis et al., (1972) μετά από έκθεση

πειραματόζων σε κάδμιο απομόνωσε ένα είδος πρωτεΐνης με τις χημικές ιδιότητες της μεταλλοθειονίνης. Στη συνέχεια οι Kimura et al., το 1974 χορήγησαν σε πειραματόζωα τύπου Wistar Albino rats κάδμιο για 3-8 εβδομάδες. Το μεγαλύτερο μέρος του μετάλλου συσσωρεύτηκε στα νεφρά και στο ήπαρ, ενώ πάνω από 90% αυτού, εντοπίστηκε συνδεδεμένο με τις μεταλλοθειονίνες, προστατεύοντας τα όργανα από μορφολογικές αλλαγές.

Μετά από σχετικές μελέτες σε αρκετά θαλάσσια είδη παρατηρήθηκε ότι οι μεταλλοθειονίνες αυξάνονται σημαντικά, καθώς οι οργανισμοί εκτίθενται σε κάδμιο. Για παράδειγμα, παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης των MT σε δίθυρα μαλάκια, μετά από έκθεση σε χαμηλές συγκεντρώσεις καδμίου για 65 ημέρες (Bedianno and Langstron, 1991). Μια μεταγενέστερη ερευνητική εργασία σε κυδώνια του είδους *Ruditapes decussatus*, έδειξε ότι η συγκέντρωση των μεταλλοθειονινών αυξήθηκε σημαντικά στους εξεταζόμενους ιστούς, μετά από έκθεση των οργανισμών αυτών σε διάφορες συγκεντρώσεις καδμίου, παρουσιάζοντας τη μεγαλύτερη αύξηση στον ιστό των βραγχίων έναντι των υπολοίπων οργάνων (Bedianno et al., 1993).

Σε μια διαφορετική μελέτη τριών ειδών ψαριών από επιβαρυμένες σε κάδμιο περιοχές της Τυνησίας, εξετάστηκε η σχέση του καδμίου με τις MT και παρατηρήθηκε σύνδεση των δύο παραμέτρων στο ήπαρ και τα βράγχια στα 2 από τα 3 είδη, τονίζοντας, όμως ότι πολλές φυσιολογικές παράμετροι μπορούν να επηρεάσουν επίσης τα επίπεδα του καδμίου (Hamza-Chaffai et al., 1995). Οι Baudrimont et al. (1997) σε μελέτη ασιατικού οστρακοειδούς απέδειξαν τη σημαντική αύξηση της βιοσύνθεσης των MT, μετά από έκθεση σε κάδμιο και ιδιαίτερα στα βράγχια και τα εντόσθια, αποδεικνύοντας τον προστατευτικό ρόλο των MT έναντι της τοξικότητας του Cd.

Μια διαφορετική έρευνα στο ψάρι κυπρίνος έδειξε αύξηση των MT, μετά από έκθεση σε κάδμιο για 29 ημέρες στα νεφρά και τα βράγχια (Smet et al., 2001). Μεταγενέστερη έρευνα που έγινε σε μύδια τα οποία τοποθετήθηκαν σε 4 θαλάσσιες περιοχές της Κροατίας για 12 μήνες έδειξε τη στενή σχέση των Cd και Zn με τις MT, ενώ και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η θερμοκρασία και η χρονική περίοδος, επηρέασαν τα επίπεδα των MT (Dragun et al., 2004).

Αργότερα, ερευνητές διερεύνησαν τη σχέση Cd και Zn με τον ρυθμό μεταγραφής ενζύμων και πρωτεϊνών που συνδέονται με το μεταβολισμό των μετάλλων και έδειξαν ότι ο ρυθμός μεταγραφής των MT επάγεται μετά από έκθεση του ψαριού στο Cd και Zn

(Hansen et al., 2007), ενώ σε ενδοεργαστηριακή μελέτη σε καρκινοειδή επαληθεύτηκε η αύξηση των MT μετά από έκθεση στο κάδμιο, που συνδέθηκε με μια χρονική συσχέτιση του Cd και των MT στο ηπατοπάγκρεας (Pan and Zhang, 2006). Ανάλογη μελέτη σε καρκινοειδές έδειξε ότι μετά από έκθεση στο Cd, σε περισσότερο από 50% των δειγμάτων, το κάδμιο των εντοσθίων δεσμεύτηκε από τις MT, ενώ στα υπόλοιπα δείγματα παρατηρήθηκε δέσμευση του καδμίου και σε άλλα είδη πρωτεϊνών (Schuwerack et al., 2009). Πρόσφατη μελέτη σε χταπόδι έδειξε τη συσχέτιση των επιπέδων MT με το Cd και το Cr, ενώ επιβεβαίωσε τον στρατηγικό ρόλο των MT στη αποτοξίνωση του γαστρεντερικού συστήματος και των βραγχίων (Raimundo et al., 2010).

Η συμβολή των μεταλλοθειονινών στην αποτοξίνωση από βαρέα μέταλλα βασίζεται στην ικανότητά τους να δεσμεύουν τα μέταλλα αυτά και να τα αδρανοποιούν κρατώντας τα ως ισχυρά σύμπλοκα στο εσωτερικό των κυττάρων (συνήθως αυτών των νεφρών ή οργάνων με παρόμοια λειτουργία). Τα σύμπλοκα αυτά συσσωρεύονται ως ανενεργές μορφές των μετάλλων στους ιστούς που περιέχουν τις μεταλλοθειονίνες, επομένως δε διακινούνται στο σώμα και άρα δεν παρεμβαίνουν στις μεταβολικές διεργασίες των οργανισμών. Μέρος των συμπλόκων MT-μετάλλου αποβάλλεται διαμέσου των κυττάρων που τα συσσωρεύουν, με σταδιακή μείωση της συγκέντρωσης των μετάλλων στον οργανισμό. Ο συγκεκριμένος μηχανισμός αποτοξίνωσης δίνει μια πιθανή εξήγηση για την επιβίωση ορισμένων ειδών σε περιβάλλον με αυξημένες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων.

Πίνακας 6.2. Πειραματικές μελέτες για τον ρόλο των μεταλλοθειονινών στην αποτοξίνωση από βαρέα μέταλλα.

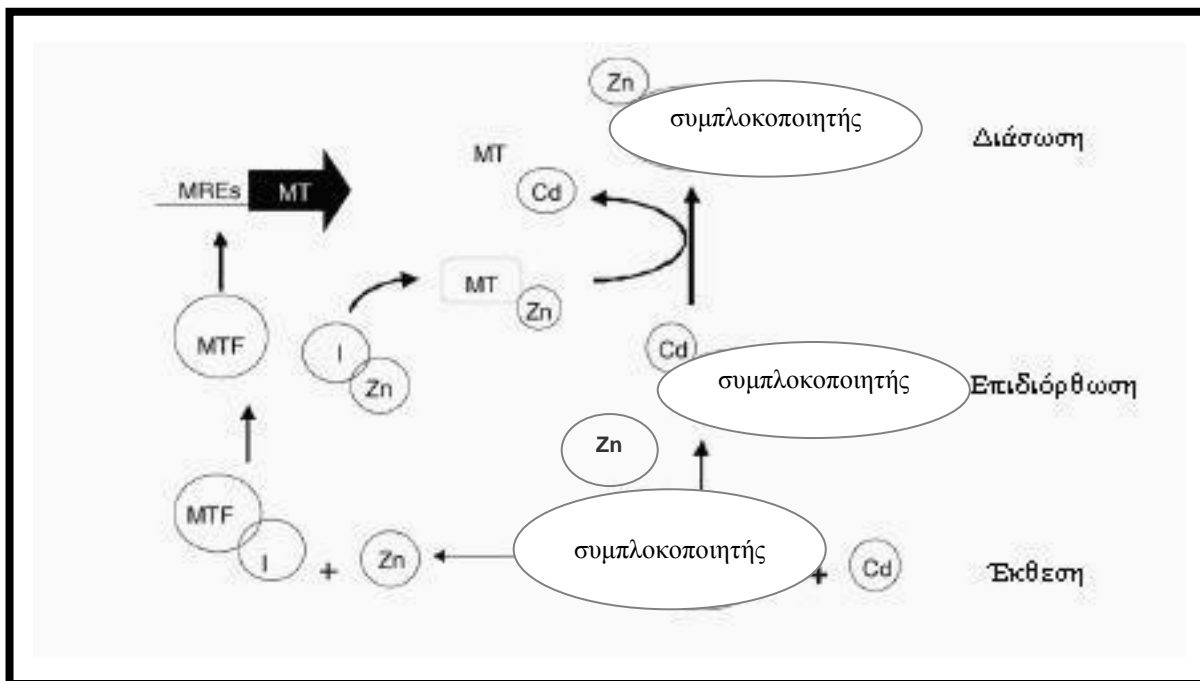
Είδος	Μέθοδος έκθεσης	Αποτέλεσμα	Αναφορά
Ποντίκια Sprague-Dawley	Ένεση (1-3 mg/kg βάρους)	Απομόνωση πρωτεΐνης με ιδιότητες όμοιες με των MT στο ήπαρ	Dennis et al., 1972
Ποντίκια Wistar Alprino	Διατροφή (10-300 mg/kg 3-8 εβδομάδες)	Συσώρευση Cd σε νεφρά και ήπαρ, παρουσία Cd-MT	Kimura et al., 1974
Μύδια <i>Mytilus edulis</i>	Μέσω υδατικού περιβάλλοντος (400 µg/L για 65 ημέρες)	Η αύξηση του καδμίου επέφερε ανάλογη αύξηση των MT στους μαλακούς ιστούς	Bedianno and Langston, 1991

Κυδώνια <i>Ruditapes decussatus</i>	Μέσω υδατικού περιβάλλοντος (400 µg/L για 40 ημέρες)	Σημαντική αύξηση των MT έναντι του μάρτυρα και ιδιαίτερα στα βράγχια	Bedianno et al., 1993
Ψάρια τριών ειδών	Αλίευση από μολυσμένες περιοχές της Τυνησίας	Συσχέτιση των επιπέδων του καδμίου με τα επίπεδα των MT στα βράγχια και το ήπαρ σε 2/3 είδη	Hamza-Chaffai et al., 1995
Οστρακοειδές <i>Corbicula fluminea</i>	Μέσω υδατικού περιβάλλοντος (35 µg/L για 45 ημέρες)	Σημαντική αύξηση της βιοσύνθεσης των MT μετά από την έκθεση στο Cd, ιδιαίτερα στα βράγχια και τα εντόσθια	Baudrimont et al., (1997)
Ψάρι κυπρίνος <i>Cyprinus caprio</i>	Μέσω υδατικού περιβάλλοντος (0,79 mg/L για 29 ημέρες)	Σημαντική αύξηση της βιοσύνθεσης των MT στα βράγχια και τα νεφρά	Smet et al., (2001)
Μύδι <i>Mytilus galloprovincialis</i>	12 μήνες σε 4 θαλάσσιες περιοχές της Κροατίας	Υψηλή συσχέτιση των MT με το Cd και τον Zn	Dragun et al., 2004
Πέστροφα <i>Salmo trutta</i>	Έκθεση για 15 ημέρες σε ποταμό με αυξημένα επίπεδα Cd	Αύξηση του ρυθμού μεταγραφής των MT μετά από έκθεση του ψαριού στο Cd και Zn	Hansen et al., 2007
Καρκινοειδές <i>Potamonautes warreni</i>	Μέσω υδατικού περιβάλλοντος (0,2 mg/L για 21 ημέρες)	Πάνω από 50% των δειγμάτων περιείχε κάδμιο δεσμευμένο με MT	Schuwert et al., 2009
Χταπόδι <i>Octopus vulgaris</i>	Αλίευση από ακτογραμμές της Πορτογαλίας	Υψηλές συγκεντρώσεις MT σε δείγματα με αυξημένη περιεκτικότητα σε Cd και Cr	Raimundo et al., 2010

Οι παρατηρήσεις αυτές έχουν οδηγήσει πολλούς ερευνητές στη διατύπωση της θεωρίας ότι οι MT μπορούν να θεωρηθούν ως δείκτες περιβαλλοντικής ρύπανσης. Η αξιοποίηση της συγκέντρωσης των MT προτάθηκε για διαφορετικούς οργανισμούς (Engel and Brouwer 1993, Linde et al., 2001, Papetti and Rossi, 2009). Το 1999 σε έκθεση των Ηνωμένων Εθνών σχετικά με τους περιβαλλοντικούς δείκτες παρακολούθησης της ρύπανσης της Μεσογείου, οι μεταλλοθειονίνες συμπεριλήφθηκαν

στον κατάλογο των επιλεγμένων δεικτών ρύπανσης (UNEP, 1999). Πάντως δεν έχουν αποσαφηνιστεί ακόμα οι βέλτιστες παράμετροι μιας τέτοιας μεθόδου, όπως για παράδειγμα ποια θα είναι τα εξεταζόμενα είδη και ιστοί, ποια πρέπει να είναι τα όρια ερμηνείας των αποτελεσμάτων και ο τρόπος σύγκρισης με τα μεταγενέστερα δείγματα, οπότε αυτό το θέμα παραμένει προς διερεύνηση. Επιπλέον, υπάρχουν ορισμένες βιβλιογραφικές αναφορές που δε συνηγορούν στην αξιοποίηση των MT ως δεικτών ρύπανσης, καθώς σε ορισμένα είδη δεν εμφανίζεται ανάλογη αύξηση της συγκέντρωσης των MT με την έκθεσή τους σε μέταλλα (Amiard et al., 2006).

Ένα απλοποιημένο μοντέλο του μηχανισμού μείωσης της τοξικότητας των βαρέων μετάλλων περιγράφεται από τον Roesijadi (1996). Όταν τα βαρέα μέταλλα εισέλθουν στο κύτταρο, ανταγωνίζονται με τα απαραίτητα μέταλλα και καταλαμβάνουν τις θέσεις τους σε διάφορα κυτταρικά λειτουργικά συστατικά, όπως οι μεταλλοθειονίνες. Αυτό οφείλεται στην *in vitro* συγγένεια των πρωτεϊνών με τα άτομα των μετάλλων, που για τις μεταλλοθειονίνες είναι κατά φθίνουσα σειρά $Hg^{2+} > Cu^{+} > Ag^{+}$, $Bi^{3+} > Cd^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+} > Co^{2+}$ (Amiard et al., 2006). Ο Zn αντικαθίσταται από τα βαρέα μέταλλα και ελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα. Η αύξηση των ατόμων Zn ενεργοποιεί έναν παράγοντα μεταγραφής (MTF), ο οποίος απελευθερώνεται από τον αναστολέα του (I) και στη συνέχεια διεγείρει το στοιχείο ρύθμισης των μετάλλων (MRE), που έχει ως προϊόν τις MT. Τα νέα μόρια των MT δεσμεύουν τα ιόντα του καδμίου, ο Zn επαναδεσμεύεται και το σύστημα επανέρχεται σε ισορροπία (σχήμα 6.3).



Σχήμα 6.3. Μοντέλο επαγωγής των MT και διάσωσης των μορίων-που δρουν ως συμπλοκοποιητές από τη δράση του καδμίου. MT= μεταλλοθειονίνες, MRE=στοιχείο ρύθμισης των μετάλλων, MTF=παράγοντας μεταγραφής, I= αναστολέας (Roesijadi, 1996).

Οι μεταλλοθειονίνες μελετήθηκαν διεξοδικά ως πρωτεΐνες αποτοξίνωσης από τα βαρέα μέταλλα. Μετά από εργαστηριακές δοκιμές σε πειραματόζωα παρατηρήθηκε η επαγωγή της σύνθεσης των μεταλλοθειονινών μετά από χρήση ουσιών παραγωγής ενεργού οξυγόνου και η μείωση της οξειδωτικής τους δράσης. Η ικανότητα αυτή των MT μελετήθηκε πιο διεξοδικά με την ανάπτυξη της γονιδιωματικής επιστήμης (Sato and Kondoh, 2002).

Κλινικές μελέτες σε πειραματόζωα με ελλιπή γονίδια παραγωγής μεταλλοθειονινών, έδειξαν ότι οι MT έχουν αντιοξειδωτικές ικανότητες έναντι των ενεργών μορφών οξυγόνου (Ghoshal et al., 1999). Επίσης, βρέθηκε ότι οι MT έχουν την ικανότητα να δρουν ενάντια στην οξειδωτική δράση της ρίζας υδροξυλίου και της ρίζας του υπεροξειδίου. Το σχετικό μέγεθος της αντιοξειδωτικής αυτής δράσης προσδιορίστηκε με βάση την αντίδραση των MT με τις ρίζες υδροξυλίου και σουπεροξειδίου (πίνακας 6.3). Από τα δεδομένα φαίνεται ότι οι MT παρεμποδίζουν κυρίως τη δράση της ρίζας υδροξυλίου (Sato and Kondoh, 2002).

Εκτός από τις ανόργανες ελεύθερες ρίζες, οι MT μπορούν να παρεμποδίσουν τη δράση και οργανικών ελεύθερων ριζών, που σχηματίζονται από τον τετραχλωράνθρακα (Sato and Kondoh, 2002).

Ο ακριβής μηχανισμός της αντιοξειδωτικής δράσης των μεταλλοθειονινών δεν έχει αποσαφηνιστεί. Βασικό ρόλο στην αντιοξειδωτική δράση του μορίου φαίνεται να παίζουν τα αμινοξέα της κυστεΐνης που βρίσκονται σε μεγάλη αναλογία στο μόριο και επομένως παρέχουν αρκετές σουλφιδρυλικές ομάδες, οι οποίες είναι τα σημεία αντίδρασης με τις ρίζες υδροξυλίου. Ακόμα θεωρείται ότι η σημαντικότερη αντιοξειδωτική δράση των MT επιτυγχάνεται με την απελευθέρωση των ιόντων Zn. Τα ελεύθερα ιόντα Zn μπορούν να μειώσουν την οξείδωση των λιπιδίων με πολλές διαφορετικές κυτταρικές λειτουργίες, όπως είναι η μείωση της πρόσληψης του σιδήρου (Fe), η παρεμπόδιση της NADPH- κυτοχρωμικής c ρεδοκτάσης ή η αύξηση της δράσης του ενζύμου γλουταθειόνης-υπεροξειδάσης.

Ένας άλλος μηχανισμός της αντιοξειδωτικής δράσης των MT σχετίζεται με τη δέσμευση των ιόντων Fe από τα μόριά τους, με αποτέλεσμα να καθίστανται ανενεργά για περαιτέρω δράση. Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί μπορούν να συμβάλουν στη αντιοξειδωτική ικανότητα των MT, αλλά μένει ακόμα να αποσαφηνιστεί αν κάποιος από αυτούς θεωρείται ως ο κυρίαρχος μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης (Sato and Bremner, 1993).

Πίνακας 6.3. Σταθερά K της αντίδρασης των ριζών υδροξυλίου και σουπεροξειδίου με τις μεταλλοθειονίνες (MT), το γλουταθειό (GSH) και τη δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD). Το γλουταθειό και η δισμουτάση του σουπεροξειδίου είναι ενδογενείς αντιοξειδωτικές ουσίες (Sato and Kondoh, 2002).

	Σταθερά K, ρίζες υδροξυλίου ($\times 10^9 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	Σταθερά K, ρίζες σουπεροξειδίου ($\times 10^9 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)
MT (ενωμένη με Zn)	2.700	4
GSH	8	67
SOD	---	>10.000

Οι μεταλλοθειονίνες συμμετέχουν ενεργά στην αντίδραση του οργανισμού έναντι των τραυματισμών, των φλεγμονών και των νεοπλασιών. Οι δύο υπεύθυνοι μηχανισμοί της δράσης αυτής είναι η αντιοξειδωτική τους ικανότητα σε συνδυασμό με την ικανότητά τους να ρυθμίζουν τον μεταβολισμό απαραίτητων μετάλλων. Οι μεταλλοθειονίνες θεωρούνται ως πρωτεΐνες-stress ή οξείας φάσης, διότι η συγκέντρωσή τους μπορεί να αυξηθεί σημαντικά λίγο μετά από την έναρξη μιας φλεγμονής ή ενός τραυματισμού. Η κύρια δράση των MT έναντι των ασθενειών βασίζεται στην αναδιανομή του Zn, ενώ η αντιοξειδωτική ικανότητα των MT βοηθά στη μείωση του οξειδωτικού στρες των κυττάρων και την αποφυγή της απόπτωσής τους μετά από την έναρξη της φλεγμονής (Coyle et al., 2002).

Ανοσολογικές και ιστολογικές έρευνες έχουν συσχετίσει την αύξηση των MT στον κυτταρικό πυρήνα με την επιτάχυνση στο ρυθμό του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Ο λόγος αύξησης των MT στον κυτταρικό πυρήνα δεν έχει ακόμα πλήρως διευκρινιστεί, πιστεύεται όμως ότι οι MT προστατεύουν το DNA από οξείδωση και διευκολύνουν την μεταφορά του Zn στα κατάλληλα ένζυμα και στους παράγοντες μεταγραφής. Παράλληλα παρατηρείται και μετακίνηση των MT από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα, φαινόμενο που συνδέεται επίσης με την αύξηση του ενδοκυτταρικού Zn, αναγκαίο στοιχείο για τη διεργασία της μίτωσης (Coyle et al., 2002).

Οι μεταλλοθειονίνες εμπλέκονται και στις μεταβολικές διεργασίες εξειδικευμένων λειτουργιών ή ιστών. Για παράδειγμα, οι μεταλλοθειονίνες, ιδίως μια συγκεκριμένη ισομορφή από αυτές (MT-3), δρουν στο περιβάλλον των νευρώνων του εγκεφάλου συμμετέχοντας στην ομαλή λειτουργία των νευρομεταφορέων. Επίσης, η ρύθμιση του Zn από τις MT βρίσκει εφαρμογή στην προστασία του εμβρύου από έλλειψη Zn κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Έχει επίσης εντοπιστεί ότι τα επίπεδα των MT μεταβάλλονται σε ασθένειες που διαταράσσουν τον μεταβολισμό των ιχνοστοιχείων ή προέρχονται από τις επιπτώσεις των βαρέων μετάλλων. Παραδείγματα τέτοιων ασθενειών είναι οι ασθένειες Wilson και Menke, Alzheimer, καλσιουρία, πρωτεϊνουρία κ.α. (Nordberg, 1998),

Από όλα τα παραπάνω στοιχεία φαίνεται ότι οι χημικές και δομικές ιδιαιτερότητες αυτών των πρωτεϊνών τις καθιστούν ικανές για πολλαπλές και σημαντικές επιδράσεις στα βιοσυστήματα. Έτσι δε μπορεί να αποδοθεί στις

μεταλλοθειονίνες ένας μόνο λειτουργικός ρόλος, εφόσον είναι ένα είδος πρωτεΐνης που βρίσκεται σε όλα σχεδόν τα ευκαρυωτικά έμβια όντα, δρα σε πολλούς και διαφορετικούς ιστούς ή σε όργανα των μεγαλύτερων οργανισμών με ποικίλους τρόπους (Coyle et al., 2002). Οι διαφορετικές λειτουργίες εξαρτώνται από το κάθε είδος και τις μεταβολικές απαιτήσεις του κάθε ιστού/οργάνου, ενώ για κάθε διαφορετική ανάγκη ενεργοποιείται και η έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων εξειδικευμένων για την παραγωγή του σωστού τύπου μεταλλοθειονινών (Amiard et al., 2006). Το σίγουρο είναι ότι οι μεταλλοθειονίνες είναι μια ομάδα πρωτεϊνών που συμμετέχουν ενεργά στην ομοιόσταση του οργανισμού, ενώ η αύξηση της συγκέντρωσής τους συνιστά έναν από τους τρόπους προσπάθειας του οργανισμού να προσαρμοστεί σε διάφορες συνθήκες στρες που οφείλονται στο εξωτερικό του περιβάλλον (Coyle et al., 2002).



Κεφάλαιο 7. Τοξικά μέταλλα και ψάρια

7.1. Γενικά στοιχεία

Τα ψάρια αποτελούν μια κατηγορία τροφίμων που καταναλώνονται ευρέως σε παγκόσμιο επίπεδο, καθώς περιέχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, χαμηλή περιεκτικότητα κορεσμένων λιπαρών οξέων και υψηλή περιεκτικότητα σε ωφέλιμα για την υγεία ω-3 λιπαρά οξέα. Λόγω της περιβαλλοντικής ρύπανσης, τα ψάρια εκτίθενται συνεχώς στους χημικούς ρύπους. Τα βαρέα μέταλλα θεωρούνται από τους πιο επικίνδυνους περιβαλλοντικούς ρύπους του υδάτινου περιβάλλοντος, λόγω της ικανότητάς τους να συσσωρεύονται στο σώμα των υδρόβιων οργανισμών (Tuzen and Soyak, 2007). Η ύπαρξη των βαρέων μετάλλων στα ψάρια οφείλεται στη ρύπανση του περιβάλλοντος. Τα μικρά ψάρια αποτελούν συχνά τον τελευταίο κρίκο της υδρόβιας τροφικής αλυσίδας, συσσωρεύοντας τα βαρέα μέταλλα από το περιβάλλον διαβίωσης και τα μεταφέρουν στα μεγαλύτερα ψάρια, στα θηλαστικά και στον άνθρωπο (Marcotrigiano and Storelli, 2003; Järup, 2003). Έτσι τα ψάρια αποτελούν μια από τις κύριες διατροφικές πηγές έκθεσης σε καδμίο, μόλυβδο και υδραργύρο. Η ανθρώπινη έκθεση, λόγω της κατανάλωσης ιχθυηρών είναι σε μερικές περιπτώσεις ιδιαίτερα αυξημένη, λόγω των μεγάλων ποσοτήτων ψαριών που καταναλώνονται (SCOOP, 2004; Falcó et al., 2006; Martí-Cid et al., 2008).

7.2. Νομοθεσία

Πολλές διαφορετικές χώρες και διεθνείς οργανισμοί (FDA, USDA, WHO) έχουν εφαρμόσει κανονιστικές ρυθμίσεις για την προφύλαξη των καταναλωτών από τη διατροφική πρόσληψη των βαρέων μετάλλων (Ikem and Egiebor, 2005). Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει κοινοποιήσει σειρά διατάξεων για τον έλεγχο και την προστασία των καταναλωτών από τους περιβαλλοντικούς επιμολυντές. Από τις σημαντικότερες αποφάσεις για τον περιορισμό των περιβαλλοντικών μολυντών αποτέλεσε η απόφαση 2455/2001, η οποία έθεσε προτεραιότητες στον έλεγχο 33 ουσιών, βάσει της τοξικότητας, της ανθεκτικότητας και της βιοσυσσώρευσής τους. Αργότερα, εφαρμόστηκαν κανονισμοί, οι οποίοι θέσπισαν μέγιστα όρια ως προς τους τοξικούς ρυπαντές, ανάμεσα σε αυτούς τα τρία βαρέα μέταλλα κάδμιο, μόλυβδο και υδράργυρος. Στον πίνακα 7.1. δίνονται τα ισχύοντα νομοθετικά όρια της ΕΕ για τα ψάρια.

Πίνακας 7.1. Μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα για τα βαρέα μέταλλα στα ψάρια (Ευρωπαϊκός κανονισμός EU 1881/2006 και ΕΕ 629/2008, Australia-Zew Zealand Food Standard 1.4.1, CODEX ALIM STAN 193-1995).

Οργανισμός-χώρες εφαρμογής	Cd mg/kg	Pb mg/kg	Hg mg/kg
Ευρωπαϊκή Ένωση-Χώρες της Ευρωπαϊκής κοινότητας	0,05-0,3*	0,3	0,5-1,0*
Codex Alimentarius Commission FAO/WHO-Όλες οι χώρες και κυρίτερα οι Η.Π.Α.	---	0,3	0,5-1,0*
Food Standard Australia and New Zealand – Αυστραλία και Νέα Ζηλανδία	---	0,5	0,5-1,0*

* εξαρτάται από το είδος του ψαριού

7.3. Επίπεδα ρύπανσης

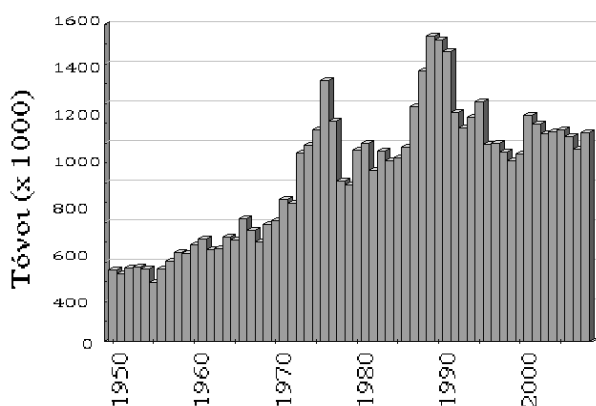
Από το τέλος της δεκαετίας του 1970 μέχρι και σήμερα τα βαρέα μέταλλα στα ψάρια αποτελούν ένα πειραματικό πεδίο συνεχούς και εξελισσόμενης έρευνας. Οι μελέτες εστιάζονται στην παρακολούθηση των επιπέδων των βαρέων μετάλλων σε διάφορες αλιευτικές ζώνες και είδη ψαριών, ενώ παράλληλα διερευνώνται οι βιοτικοί και αβιοτικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοσυσσώρευση των βαρέων μετάλλων

στους ιστούς των ιχθυηρών.

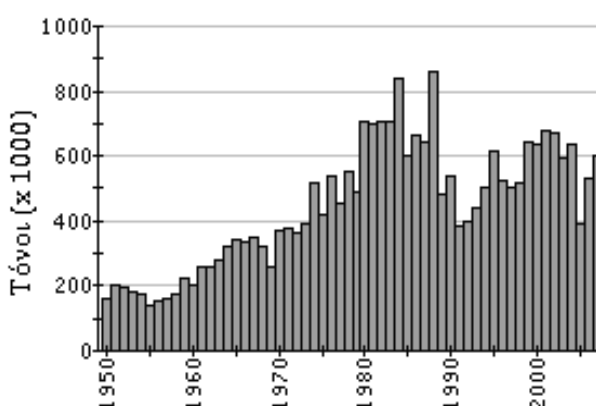
7.3.1. Μεσόγειος

Μια από τις αλιευτικές ζώνες που έχει μελετηθεί διεξοδικά είναι η Μεσόγειος θάλασσα, διότι θεωρείται ως μια περιοχή με αυξημένα ποσοστά ρύπανσης (Fowler, 1986). Η Μεσόγειος αποτελεί τη μεγαλύτερη Ευρωπαϊκή ημι-κλειστή θάλασσα με πολύ μικρό ρυθμό ανανέωσης των υδάτων (περίπου κάθε 80 χρόνια). Οι 21 χώρες που την περιβάλλουν, συνθέτουν μια μεγάλη πηγή ρύπανσης, λόγω των παράκτιων ανθρωπογενών δραστηριοτήτων. Στις ακτογραμμές καταμετρώνται 601 πόλεις με περισσότερους από 10.000 κατοίκους/πόλη, από τις οποίες μόνο το 69% διατηρεί κάποιο είδος περιβαλλοντικής διαχείρισης των αποβλήτων τους. Τα αρνητικά αποτελέσματα της παράκτιας δραστηριότητας σε συνδυασμό με άλλες πηγές θαλάσσιας ρύπανσης έχουν οδηγήσει σε αυξημένα επίπεδα ρύπανσης σε ανόργανους και οργανικούς ρύπους, μεταξύ αυτών και σε βαρέα μέταλλα (EEA, 2006).

Ο γαύρος και η σαρδέλα απαρτίζουν δύο είδη ιχθυηρών με μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον για τη Μεσόγειο, διότι η αλίευσή τους αποτελεί σημαντικό κομμάτι της τοπικής οικονομίας, της κουλτούρας και της παράδοσης των μεσογειακών χωρών. Η παραγωγή γαύρου και σαρδέλας ξεπερνά τους 600 χιλιάδες τόνους ετησίως, από τους οποίους το 90% περίπου αλιεύεται στη Μεσόγειο. Η ετήσια παραγωγή ξεπέρασε τα 1,4 εκατομμύρια τόνους για τη σαρδέλα τα έτη 1989-1991 τους 800 χιλιάδες για τον γαύρο τα έτη 1984 και 1988 (σχήμα 7.1). Η εντατική αλίευση επέφερε μείωση στους πληθυσμούς του γαύρου και της σαρδέλας της Μεσογείου, γεγονός που οδήγησε στη λήψη μέτρων κατά της υπεραλίευσης και της προστασίας των θαλάσσιων αποθεμάτων (FAO, 2010).



Σαρδέλα



Γαύρος

Σχήμα 7.1. Παγκόσμια παραγωγή σαρδέλας και γαύρου από το 1950 μέχρι το 2007/2008 (FAO - Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Service, 2010).

Το κάδμιο, ο μόλυβδος και ο υδράργυρος αποτελούν τα βαρέα μέταλλα που συσσωρεύονται στη σαρδέλα και τον γαύρο με σοβαρές τοξικολογικές επιπτώσεις. Στον πίνακα 7.2 δίνονται αποτελέσματα ερευνητικών δημοσιεύσεων για τα επίπεδα Cd, Pb και Hg στη σαρδέλα, στον γαύρο και σε άλλα είδη της Μεσογείου. Από τα αποτελέσματα συμπεραίνεται ότι ο μόλυβδος αποτελεί το μέταλλο με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις στα ψάρια αυτά, ενώ το κάδμιο και ο υδράργυρος βρίσκονται σε παρόμοια επίπεδα.

Σχετικά με τη γεωγραφική κατανομή, παρατηρείται μια τάση για εμφάνιση μεγαλύτερων συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων στην ανατολική Μεσόγειο σε σχέση με τη δυτική Μεσόγειο, κάτι που ενδεχομένως να σχετίζεται με την επαρκέστερη διαχείριση των αστικών αποβλήτων των δυτικών χωρών (Ισπανία, Πορτογαλία, Γαλλία) σε σχέση με τις ανατολικές, λιγότερο αναπτυγμένες χώρες (Αίγυπτος, Τουρκία, Λίβανο). Σε σύγκριση με τα νομοθετικά όρια, το κάδμιο στη πλειοψηφία των μελετών είναι σε εναρμόνιση με τα ανώτατα όρια, ενώ αντίθετα ο μόλυβδος εμφανίζει συχνά τιμές πάνω από τα μέγιστα όρια, κατά προσέγγιση στο 30% των μελετών. Όσον αφορά στον υδράργυρο, φαίνεται ότι δε απαντάται σε σημαντικά ποσοστά στα μικρού μεγέθους ψάρια, όπως η σαρδέλα και ο γαύρος, αλλά είναι περισσότερο αυξημένος σε μεγαλύτερα μεγέθους ψάρια, όπως το λιθρίνι (*P. erythrinus*) και ο σαργός (*D. Sargus*), χωρίς όμως τα αποτελέσματα να ξεπερνούν τα ανώτατα όρια ανοχής της ΕΕ.

Πίνακας 7.2. Επίπεδα Cd, Pb και Hg σε σαρδέλα και γαύρο της Μεσογείου (mg/kg).

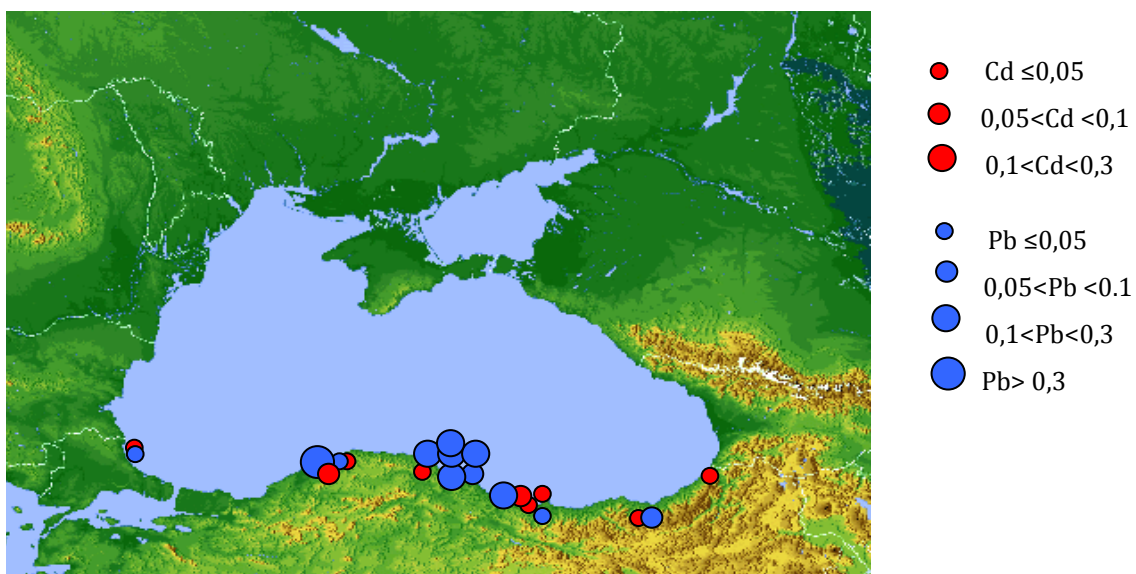
		Σαρδέλα			
Περιοχή	Ιστός	Cd	Pb	Hg	Αναφορά
Ισπανία	Σάρκα *	0,043	0,105	0,105	Pastor et al. 1994
Αίγυπτος (αγορά)	Σάρκα	0,086	11,1		Abou-Arab et al., 1996
Αδριατική και Ιόνιο	Σάρκα *	<0,01	<0,02		Marcotrigiano and Storelli, 2003
Ανατολική Μεσόγειος	Σάρκα **	0,55	5,57		Canli and Atli, 2003
-Τουρκία	Ήπαρ**	2,99	39,43		
	Βράγχια**	1,56	8,99		

Ισπανία (αγορά)	Σάρκα*	0,008	0,035	0,08	Falcó et al., 2006
Κανάλι Suez	Σάρκα*	0,028		0,287	Soliman, 2006
Αδριατική-Ιταλία	Σάρκα*	0,03	0,06	0,09	Storelli, 2008
Ισπανία-(αγορά)	Σάρκα*	0,003	0,027	0,082	Martí-Cid et al., 2008
Γαύρος					
Περιοχή	Ιστός	Cd	Pb	Hg	Αναφορά
Ισπανία	Σάρκα	0,053	0,543	0,06	Pastor et al. 1994
Αδριατική και Ιόνιο	Σάρκα*	<0,01	<0,02		Marcotrigiano and Storelli, 2003
Μαύρη θάλασσα	Σάρκα**	0,1	<0,05		Dalman et al., 2006
Ισπανία-Καταλονία (αγορά)	Σάρκα *	0,01	0,017	0,08	Falcó et al., 2006
Αδριατική-Ιταλία	Σάρκα*	0,01	0,1	0,07	Storelli, 2008
Ανατολική Μεσόγειος-Βορειοανατολικό Αιγαίο-Τουρκία	Σάρκα*	0,07	0,36		Türkmen et al., 2008
	Ήπαρ*	0,1	0,44		
Ισπανία (αγορά)	Σάρκα*	0,006	<0,025	0,082	Martí-Cid et al., 2008
Τουρκία (αγορά)	Σάρκα*	0,004	0,006		Oymak et al., 2009
Αδριατική (Marche-Ιταλία)	Σάρκα*	<0,13	<1,0	<0,25	Desideri et al., 2010
Άλλα ψάρια					
Περιοχή	Είδος	Cd	Pb	Hg	Αναφορά
Νοτιοανατολική	<i>S. undosquamis**</i>	1,31	3,47		Türkmen et al., 2005
Μεσόγειος-Τουρκία	<i>M. barbatus**</i>	0,83	1,81		
	<i>S. aurata**</i>	1,34	2,31		
Ακτές Λιβάνου	<i>S. undosquamis*</i>	ND		0,147	Hornung and Kress, 1991
	<i>T. mediterraneus*</i>	ND		0,103	
	<i>M. barbatus*</i>	0,026		0,108	
	<i>U. moluccensis*</i>	0,006		0,240	
	<i>P. erythrinus*</i>	ND		0,303	
	<i>D. sargus</i>	0,031		0,255	
	<i>L. mormyrus</i>	0,017		0,102	
	<i>P. ehrenbergii</i>	0,016		0,207	

* νωπό βάρος, ** ξηρό βάρος

7.3.2. Μαύρη θάλασσα

Η Μαύρη θάλασσα αποτελεί μια περιοχή ιδιαίτερου ερευνητικού ενδιαφέροντος διότι παρουσιάζει ιδιόμορφα γεωμορφολογικά, υδρολογικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Αποτελεί μια κλειστή θάλασσα με πολύ αργό ρυθμό ανανέωσης των υδάτων (100-150 χρόνια). Θεωρείται το μεγαλύτερο στον κόσμο μερομικτικό περιβάλλον - το επιφανειακό με το βαθύτερο νερό δεν αναμιγνύονται. Επιπλέον, στα επιφανειακά νερά επικρατεί έλλειψη οξυγόνου, ενώ η θάλασσα χαρακτηρίζεται και από ένα πολύ μικρό ποσοστό αλατότητας (1,8% έναντι 3,8% της Μεσόγειου θάλασσας) (Türkmen et al., 2008). Το θαλάσσιο περιβάλλον της Μαύρης θάλασσας είναι περιβαλλοντικά επιβαρυνόμενο, διότι το νερό ανανεώνεται με πολύ αργό ρυθμό και υπάρχει σημαντική εισροή ρυπασμένου γλυκού νερού από το χερσαίο περιβάλλον. Επιπλέον τα επίπεδα των βαρέων μετάλλων είναι αυξημένα, λόγω της βιομηχανικής, αστικής, μεταφορικής και αγροχημικής παράκτιας δραστηριότητας (Torcuoğlu et al., 2002). Στο σχήμα 7.3.2. απεικονίζονται τα επίπεδα βαρέων μετάλλων σε διάφορα είδη ψαριών, τη χρονική διάρκεια 1997-2005. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι η ρύπανση από μόλυβδο είναι το κυριότερο πρόβλημα στην περιοχή της Μαύρης θάλασσας. Σε ορισμένες περιπτώσεις τα επίπεδα Cd και Pb ξεπερνούν τα ανώτατα όρια του Food Codex Τουρκίας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 0,1 mg/kg για το κάδμιο και 0,3 mg/kg για τον μόλυβδο (Tuzen, 2009, Uluozlu et al., 2007).



Σχήμα 7.2. Επίπεδα Cd και Pb (mg/kg) σε ψάρια της Μαύρης θάλασσας τα έτη 1997-

2005 (Türkmen et al., 2008, Tüzen, 2003 και Topcuoğlu et al., 2002).

7.3.3. Άλλες περιοχές

Ο Ατλαντικός Ωκεανός αποτελεί τόπο αλιείας για τις χώρες της δυτικής Αφρικής, της δυτικής Ευρώπης και των ανατολικών ακτών της Αμερικής. Η Ισπανία καταναλώνει μεγάλη ποσότητα ιχθυηρών από τις ακτές του Ατλαντικού. Από τα σχετικά αποτελέσματα Ισπανών ερευνητών προέκυψε ότι τα ψάρια των νοτίων ακτών του Ατλαντικού Ωκεανού παρουσιάζουν χαμηλή περιεκτικότητα σε τοξικά μέταλλα, καθώς σε όλες τις περιπτώσεις δειγματοληψίας τα δεδομένα Cd, Pb και Hg δεν ξεπέρασαν το 0,1 mg/kg (Usero et al., 2003).

Ανάλογα ήταν και τα αποτελέσματα από εξέταση ψαριών από τις ακτές της Πορτογαλίας, στην οποία ο προσδιορισμός βαρέων μετάλλων σε εφτά διαφορετικά είδη ψαριών, έδειξε ότι τα επίπεδα των βαρέων μετάλλων είναι χαμηλά και σε ελάχιστες περιπτώσεις ξεπερνούν το 0,1 mg/kg και άρα δεν προκαλούν τοξικολογικές επιπτώσεις στην υγεία των καταναλωτών (Pérez Cid et al., 2001). Νοτιότερα, στις δυτικές ακτές της Αφρικής και συγκεκριμένα στην αλιευτική ζώνη της Νιγηρίας, τα επίπεδα των βαρέων μετάλλων στα ψάρια έχουν ακόμα χαμηλότερες τιμές. Βάσει μετρήσεων σε 5 εμπορικά είδη ψαριών, τα επίπεδα των Cd, Pb και Hg κυμαίνονται από 0,001-0,02 mg/kg (Eboh et al., 2006). Ένα μεγάλο μέρος από τις δυτικές ακτές του Ατλαντικού Ωκεανού καλύπτεται από τις ζώνες αλίευσης των Η.Π.Α. Διερεύνηση σε εννέα είδη ιχθύων από την τοπική αγορά του New Jersey έδειξε ότι τα επίπεδα των βαρέων μετάλλων είναι αυξημένα σε σχέση με τα επίπεδα της ανατολική πλευράς του Ατλαντικού. Τα επίπεδα των βαρέων μετάλλων ακολούθησαν σχεδόν σε όλα τα είδη την αναλογία $Hg > Pb > Cd$. Ο υδράργυρος σε κάποια μεγάλα ψάρια όπως τον τόνο ξεπέρασε τα νομοθετικά όρια, γεγονός που αναμένεται να έχει αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία των συστηματικών καταναλωτών τόνου (Burger and Gochfeld, 2005).

Ο Ινδικός Ωκεανός αποτελεί μια αλιευτική ζώνη με αυξημένη αλιευτική δραστηριότητα, λόγω της αφθονίας και του χαμηλού κόστους των παραγόμενων ψαριών. Παρόλα αυτά, οι μελέτες για τη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων σε ψάρια είναι σχετικά περιορισμένες, πιθανώς διότι οι χώρες που περιβάλλουν αυτή τη θαλάσσια ζώνη έχουν χαμηλό βιοτικό επίπεδο. Πρόσφατη μελέτη σε ψάρια μεγάλου μεγέθους του Ινδικού Ωκεανού έδειξε ότι έχουν αυξημένα ποσοστά υδράργυρου (μέσος

όρος μέχρι και 3,97 mg/kg ξηρού βάρους) και καδμίου (μέχρι και 1,04 mg/kg, επί ξηρού βάρους), ενώ χαμηλότερες ήταν οι συγκεντρώσεις του μολύβδου (έως και 0,12 mg/kg, επί ξηρού βάρους) (Kojadinovic et al., 2007). Το ίδιο έτος δημοσιεύτηκε έρευνα σε ψάρια της περιοχής Cochin της Ινδίας, όπου βρέθηκαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε βαρέα μέταλλα. Παρόλα αυτά, σε ορισμένα δείγματα ο υδράργυρος ήταν αυξημένος (2,31 mg/kg νωπού βάρους), ενώ η περιεκτικότητα σε κάδμιο και μόλυβδο κυμάνθηκε από 0,09-1,32 mg/kg νωπού βάρους, ανάλογα με το είδος του ψαριού (Sivaperumal et al., 2007).

Από τα αποτελέσματα των παραπάνω μελετών, φαίνεται ότι τα επίπεδα των βαρέων μετάλλων στα ψάρια ποικίλουν σημαντικά στις διάφορες δημοσιευμένες μελέτες, ακόμα και στα ψάρια του ίδιου είδους. Οι κυριότεροι παράγοντες που εκτιμάται ότι επηρεάζουν τη συσσώρευση των βαρέων μετάλλων στα ψάρια είναι:

- Περιοχή αλίευσης. Το επίπεδο ρύπανσης των υδάτων επηρεάζει τη συσσώρευση των μετάλλων στον οργανισμό (Abou-Arab et al., 1996). Περιοχές με αυξημένο πληθυσμό, κοντά σε εκβολές ποταμών, με μεγάλη βιομηχανική δραστηριότητα έχουν υψηλότερα επίπεδα βαρέων μετάλλων (Pastor et al., 1994). Μελέτη βαρέων μετάλλων στο κανάλι του Suez έδειξε υψηλά επίπεδα υδραργύρου σε ψάρια, γεγονός που αποδόθηκε στο υψηλό ποσοστό ρύπανσης των παράκτιων υδάτων, λόγω της διακίνησης των λιμανιών, της παραμονής των πλοίων στα λιμάνια και της απόθεσης υγρών λυμάτων από τις γειτονικές πόλεις (Soliman, 2006). Επίσης, έρευνα σε ψάρια που ζουν κοντά και μακριά από τις ακτές έδειξε ότι η παράκτια ζώνη αλίευσης είναι περισσότερο επιβαρυσμένη σε υδράργυρο, με αποτέλεσμα τα ψάρια που τρέφονται σε αυτή την περιοχή να συσσωρεύουν μεγαλύτερα ποσά υδραργύρου στη σάρκα τους (Hornung and Kress, 1991). Μια μεταγενέστερη μελέτη στις ανατολικές ακτές του Αιγαίου, το Μαρμαρά και τη Μαύρη θάλασσα σε γαύρο και μαρίδα έδειξε ότι η περιοχή δειγματοληψίας επηρεάζει σημαντικά τα επίπεδα του καδμίου και του μολύβδου στη σάρκα και το ήπαρ (Türkmen et al., 2008).
- Εποχικότητα. Η περίοδος αλίευσης μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα των βαρέων μετάλλων. Σε μελέτη ψαριών από ακτές της Μαύρης θάλασσας εντοπίστηκαν διαφορές στα επίπεδα των βαρέων μετάλλων Cd και Pb μεταξύ

άνοιξης και καλοκαιριού (Torcuoglu et al., 2002). Η αύξηση ή μείωση των επιπέδων στη διάρκεια του χρόνου ποικίλει ανάλογα με το είδος του δείγματος και το μέταλλο που προσδιορίζεται (Desideri et al., 2010).

- Περιβαλλοντικοί παράγοντες (θερμοκρασία νερού, αλατότητα, σκληρότητα νερού, βάθος, αλληλεπιδράσεις τοξικών μετάλλων και άλλων στοιχείων, συγκέντρωση βαρέων μετάλλων στο νερό (Abou-Arab et al., 1996, Storelli, 2008, Usero et al., 2003).
- Διατροφή (Canli και Atli, 2003; Kojadinovic et al., 2007)
- Βιοχημικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των ψαριών, όπως το στάδιο ανάπτυξης, η ηλικία και το φύλο. Σε μερικά είδη ψαριών, όπως ο *M. merluccius*, *M. rotassou*, *L. caudatus*, *H. dactylopterus*, *P. blennoides*, *L. budegasa* και *G. melastomus* έχει βρεθεί ότι οι συγκεντρώσεις του υδραργύρου αυξάνονται με την αύξηση του βάρους, δίνοντας μια ένδειξη ότι ο υδράργυρος συσσωρεύεται κατά τη διάρκεια ζωής των ψαριών (Marcotrigiano and Storelli, 2003). Παρόμοιες μελέτες σε άλλα είδη έδειξαν επίσης ότι ο υδράργυρος έχει την τάση να συσσωρεύεται κατά τη διάρκεια ζωής των ψαριών, χωρίς όμως αυτό να επιβεβαιώνεται και για τα υπόλοιπα τοξικά μέταλλα (Soliman, 2006 Hornung and Kress, 1991). Η αυξανόμενη βιοσυσσωρευση του υδραργύρου στην τροφική αλυσίδα έχει καταγραφεί σε σχετικές μελέτες με διάφορα ψάρια (Storelli, 2008; Storelli and Barone, 2013).
- Αντιθέτως, μελέτη της σχέσης μεγέθους-συγκέντρωσης μετάλλων (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) σε ψάρια των ειδών *S. auratus*, *A. hepsetus*, *M. cephalus*, *T. cuculus*. *S. pilchardus* και *S. saurus* έδειξε ότι το μέγεθος επηρεάζει αρνητικά τη συγκέντρωση ορισμένων μετάλλων, όπως τον Pb και το Cr. Η αρνητική σχέση μεγέθους-συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων αποδίδεται στον υψηλότερο μεταβολισμό των μικρών ψαριών, καθώς ο αυξημένος ρυθμός μεταβολισμού έχει ως συνέπεια την αύξηση της συγκέντρωσης των μετάλλων που εισέρχονται στο σώμα των ψαριών, με αποτέλεσμα αυτά να συσσωρεύονται στους σωματικούς ιστούς. Η συγκέντρωση τόσο των απαραίτητων όσο και των μη απαραίτητων μετάλλων επηρεάζει την ανάπτυξη των μικρών ψαριών. Μη απαραίτητα μέταλλα, όπως ο υδράργυρος μπορούν να προκαλέσουν

δυσλειτουργίες στα έμβρυα των ψαριών, να καθυστερήσουν την ομαλή ανάπτυξη, να καταστρέψουν τα όργανα και να επιφέρουν το θάνατο (Canli and Alti, 2003; Hornung and Kress, 1991).



Κεφάλαιο 8. Τοξικά μέταλλα και κεφαλόποδα

8.1. Γενικά στοιχεία

Η κλάση των κεφαλόποδων “Class Cephalopoda” αποτελεί τη πιο σύνθετη από άποψη ποικιλομορφίας των ειδών που την αποτελούν. Περιλαμβάνει πολλά θαλάσσια είδη που ζουν σε όλα τα μέρη του κόσμου (εκτός από τη Μαύρη θάλασσα) και διαβιώνουν τόσο στα επιφανειακά ύδατα όσο και σε μεγάλα βάθη. Η κλάση “Cephalopoda” χωρίζεται σε δύο υποκλάσεις: την υποκλάση Coleoidea, η οποία περιέχει τις μεγαλύτερες ομάδες, όπως τα καλαμάρια, τις σουπιές και τα χταπόδια και την υποκλάση Nautiloidea, η οποία περιλαμβάνει τα γένη τα Nautilus και Allonautilus, τα οποία είναι και τα μόνα με εξωτερικό κέλυφος. Η ταξινόμηση της υποκλάσης Coleoidea έχει αναθεωρηθεί πολλές φορές κατά τη διάρκεια της επιστημονικής εξέλιξης.

Η μεγάλη γεωγραφική διασπορά και ποικιλομορφία των συνθηκών διαβίωσης έχει οδηγήσει σε σημαντικές διαφοροποιήσεις ως προς τα ανατομικά, φυσιολογικά και οικολογικά χαρακτηριστικά των ειδών που ανήκουν στην κλάση Cephalopoda. Έτσι ανάμεσα στα περίπου 1000 είδη που πιστεύεται ότι υπάρχουν στη γη (μέχρι σήμερα έχουν καταγραφεί περίπου 720) παρατηρούνται σημαντικές διαφορές σε στοιχεία, όπως το μέγεθος (από <1 cm μέχρι 20 m), τη διάρκεια ζωής (από 2-3 μήνες ως και 20 χρόνια), τον τρόπο αναπαραγωγής, τη συμπεριφορά κ.α. Γενικά όμως τα κεφαλόποδα θεωρούνται ως αρπακτικά είδη που τρέφονται με άλλους θαλάσσιους οργανισμούς, όπως οστρακοειδή, ψάρια, άλλα κεφαλόποδα και δίθυρα μαλάκια. Πολλά κεφαλόποδα

μπορούν να καταναλώσουν τεράστιες για το μέγεθός τους ποσότητες, όπως π.χ. κάποια είδη χταποδιού που καταναλώνουν μέχρι και 15% του βάρους τους καθημερινά. Τα προϊόντα μεταβολισμού της τροφής των κεφαλόποδων είναι κυρίως πρωτεϊνικά: παρατηρείται μικρή έως καθόλου αφομοίωση των υδατανθράκων και των λιπών από την τροφή, ενώ αντίθετα οι πρωτεΐνες μπορούν και μετατρέπονται ταχύτατα σε μυϊκή μάζα (FAO, 2006b).

Τα περισσότερα κεφαλόποδα έχουν μικρή διάρκεια ζωής και αυξημένο ρυθμό μεταβολισμού και ανάπτυξης που σε πολλές περιπτώσεις διατηρείται εκθετικός για τη μεγαλύτερη διάρκεια της ζωής τους. Με αυτό τον ρυθμό μεταβολισμού συχνά συσσωρεύουν μεγάλες ποσότητες βαρέων μετάλλων στο σώμα τους, με αποτέλεσμα αυτές να μεταφέρονται μέσω της τροφικής αλυσίδας στους ανώτερους οργανισμούς και στον άνθρωπο (Bustamante et al., 1998a, Miramand and Bentley, 1992).

Τα κεφαλόποδα αποτελούν σημαντική τροφή για τον άνθρωπο. Χαρακτηρίζονται από την υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη με ισορροπημένη αναλογία των απαραίτητων αμινοξέων και από τη χαμηλή συγκέντρωση σε λίπη. Επομένως, είναι ιδιαίτερα δημοφιλή σε άτομα που ακολουθούν διαιτολόγια χαμηλής θερμιδικής αξίας ή υγιεινής διατροφής. Στις δυτικές χώρες, η κατανάλωση κεφαλόποδων συνδέεται όχι μόνο με τον υγιεινό τρόπο διατροφής, αλλά και με τη φιλοσοφία της σωστής διαβίωσης - well being (Lourenço et al., 2009, Pierce et al., 2008).

Τα στατιστικά στοιχεία αποδεικνύουν ότι η κατανάλωση κεφαλόποδων παρουσιάζει αυξητικές τάσεις. Είναι χαρακτηριστικό ότι τα έτη 2000-2006, η παγκόσμια παραγωγή κεφαλόποδων με κύρια προϊόντα το καλαμάρι, τις σουπιές και το χταπόδι παρουσίασε ετήσια αύξηση της τάξης του 15%. Η κατανάλωση των προϊόντων αυτών σε ορισμένες χώρες είναι εντυπωσιακά υψηλή, όπως για παράδειγμα στις Μαλβίδες νήσους που καταναλώνονται περίπου 180 κιλά κεφαλόποδων/κάτοικο/έτος (FAO 2006a). Για αυτό τον λόγο τα τελευταία χρόνια και η επιστημονική κοινότητα διερευνά με αμείωτο ενδιαφέρον, τόσο τη βιολογία των κεφαλόποδων, όσο και τις τοξικολογικές επιπτώσεις της συγκέντρωσης των τοξικών μετάλλων στον οργανισμό τους.

8.2. Νομοθεσία

Η κατανάλωση ρυπασμένων με τοξικά μέταλλα κεφαλόποδων αποπνέει συχνά ανησυχία για την υγεία των καταναλωτών και ιδιαίτερα τις τελευταίες δεκαετίες, όπου η παρουσία των βαρέων μετάλλων στο περιβάλλον έχει αυξηθεί, λόγω των ανθρωπογενών δραστηριοτήτων (Paretto and Rossi, 2009). Για την προστασία της υγείας των καταναλωτών από τα βαρέα μέταλλα έχουν θεσπιστεί μέγιστα όρια ανοχής σε εθνικό και διεθνές επίπεδο. Διακρατικοί οργανισμοί όπως η Ευρωπαϊκή ένωση έχουν ορίσει μέγιστα όρια ανοχής στα κεφαλόποδα για τρία βαρέα μέταλλα: κάδμιο, μόλυβδο και υδράργυρο. Στον παρακάτω πίνακα (8.1) δίνονται τα ισχύοντα όρια της διεθνούς νομοθεσίας για τα βαρέα μέταλλα:

Πίνακας 8.1. Μέγιστα όρια ανοχής για τη συγκέντρωση τοξικών μετάλλων στα κεφαλόποδα (Ευρωπαϊκός κανονισμός EU 1881/2006, Australia-Zew Zealand Food Standard 1.4.1, CODEX ALIM STAN 193-1995).

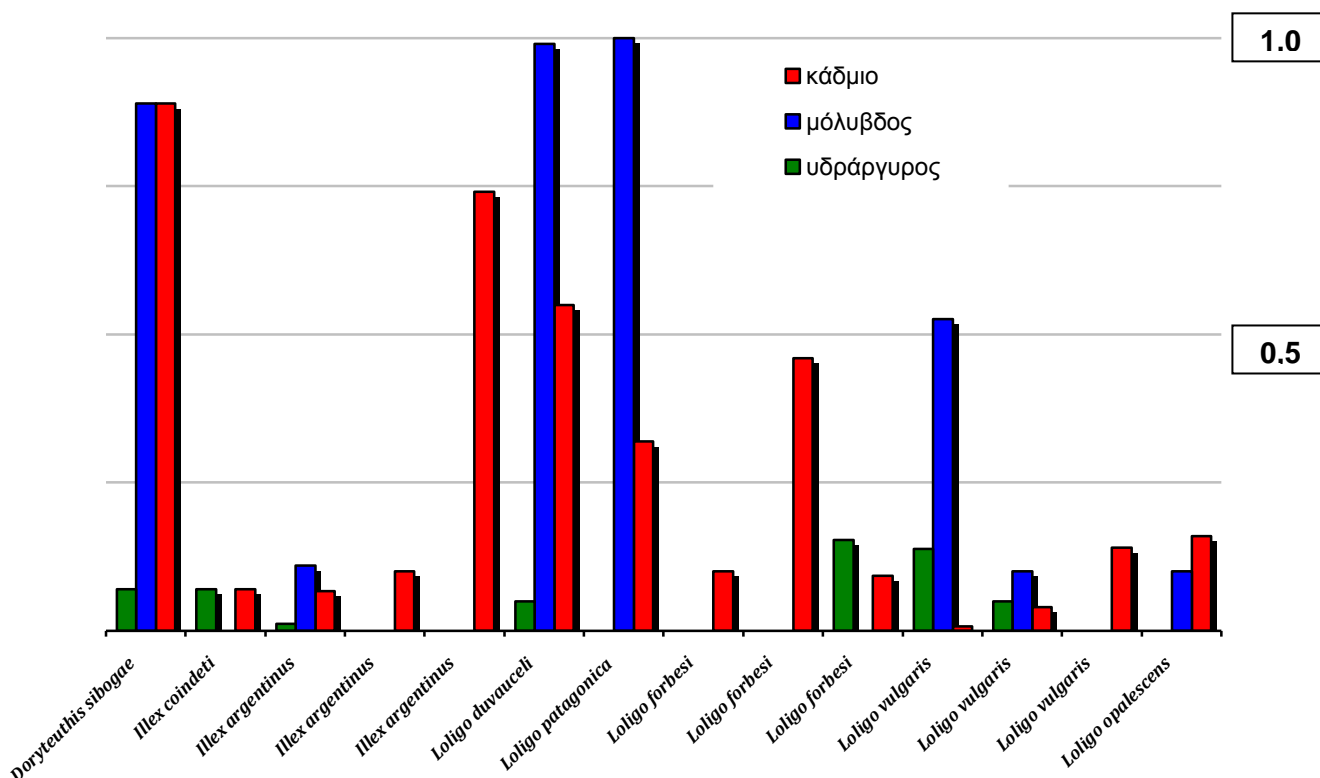
Οργανισμός-χώρες εφαρμογής	Cd mg/kg	Pb mg/kg	Hg mg/kg
Ευρωπαϊκή Ένωση-Χώρες της Ευρωπαϊκής κοινότητας	1,0	1,0	0,5
Codex Alimentarius Commission FAO/WHO-Όλες οι χώρες και κυριότερα οι Η.Π.Α.	2,0	---	---
Food Standard Australia and New Zealand – Αυστραλία και Νέα Ζηλανδία	2,0	2,0	0,5

8.3. Επίπεδα ρύπανσης

Τα καλαμάρια και τα χταπόδια έχουν χρησιμοποιηθεί στη διατροφή των ανθρώπων εδώ και περισσότερο από 2.000 έτη. Αποτελούν τα πιο δημοφιλή κεφαλόποδα προς κατανάλωση, ιδιαίτερα σε χώρες της Μεσόγειου και στην Ιαπωνία. Τις τελευταίες δεκαετίες, η αλίευση του καλαμαριού έχει αυξηθεί παγκοσμίως στηρίζοντας την τοπική οικονομία πολλών χωρών που δεν ασχολούνταν στο παρελθόν με την αλίευσή του. Τα καλαμάρια και χταπόδια σπάνια καταναλώνονται ωμά και συνήθως μαγειρεύονται, ενώ μπορούν να υποστούν και διάφορες μορφές επεξεργασίας, όπως καπνισμό, κονσερβοποίηση ή ξήρανση (Falandyz, 1989).

8.3.1. Καλαμάρια και αλιευτικές ζώνες της Μεσογείου, Ατλαντικού Ωκεανού, Ινδικού Ωκεανού

Από τη δεκαετία του 1980 μέχρι και σήμερα έχουν δημοσιευτεί πολλές μελέτες για τα επίπεδα των βαρέων μετάλλων στα καλαμάρια σε διάφορες αλιευτικές ζώνες. Οι αναφορές εστιάζουν στην ανάλυση των μη απαραίτητων μετάλλων σε διαφορετικά είδη και ιστούς του καλαμαριού, ενώ παράλληλα εξετάζονται και πιθανές παράμετροι που επηρεάζουν τη συσσώρευση των βαρέων μετάλλων, όπως είναι το φύλο, το μέγεθος, η ηλικία, η περιοχή αλίευσης, η διάρκεια έκθεσης κ.α. Στο γράφημα του σχήματος 8.1 δίνονται ενδεικτικές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων σε διάφορα είδη καλαμαριού από βιβλιογραφικές αναφορές των τελευταίων 25 ετών.



Σχίσμα 8.1. Συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων (mg/kg) στα νωπά καλαμάρια (σάρκα) τα έτη 1988-2013 (Lourenço et al., 2009, Papetti and Rossi, 2009; Pierce et al., 2008; Sivaperumal et al., 2007; Craig and Overnell, 2003; Prafulla et al., 2001,; Gerpe et al., 2000; Bustamante et al, 1998a, Storelli and Marcotrigiano, 1999; Falandysz, 1988; Falandysz, 1989).

Από τα δεδομένα που δίνονται στο σχήμα 8.1 φαίνεται ότι το κάδμιο στη σάρκα των καλαμαριών κυμαίνεται σε αρκετές περιπτώσεις κοντά στα 0,5 mg/kg που είναι και το μέσο του νομοθετικού ορίου για την ΕΕ, ενώ έχουν αναφερθεί και υψηλότερες τιμές. Σε μελέτη πάνω στο καλαμάρι *Illex argentinus* ένα μεγάλο μέρος των βαρέων μετάλλων βρέθηκε στο μελάνι, λόγω αντικατάστασης των απαραίτητων ιχνοστοιχείων Cu, Zn, Fe με τα ιόντα των βαρέων μετάλλων στις πρωτεΐνες του μελανιού (Falandysz, 1988).

Μια διαφορετική έρευνα σε κεφαλόποδα της νότιας Αδριατικής θάλασσας παρουσίασε χαμηλές συγκεντρώσεις καδμίου και υδραργύρου <0,1 mg/kg στη σάρκα του καλαμαριού *Illex coindetii* και μόνο στο ηπατοπάγκρεας των δειγμάτων σημειώθηκαν τιμές πάνω από 1 mg/kg. Υψηλότερες συγκεντρώσεις μολύβδου σημειώθηκαν στη δυτική ακτή της Ιταλίας Terracina, μια περιοχή με έντονη βιομηχανική και εμπορική δραστηριότητα. Από τα τρία βαρέα μέταλλα Cd, Pb και Hg, που εξετάστηκαν στο καλαμάρι *Loligo vulgaris*, ο μόλυβδος σημείωσε τις υψηλότερες τιμές με μέσο όρο τα 0,53 mg/kg. Οι μεγάλες συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στα καλαμάρια είναι μια ένδειξη της ρύπανσης της εν λόγω περιοχής, αν και σε κανένα από τα εξεταζόμενα δείγματα δεν ξεπεράστηκαν τα θεσπισμένα νομοθετικά όρια για την ΕΕ (Papetti and Rossi, 2009).

Ο Ατλαντικός Ωκεανός αποτελεί μια σπουδαία αλιευτική ζώνη για τα κεφαλόποδα. Οι Bustamante et al. (1998a), μελετώντας κεφαλόποδα από διάφορες αλιευτικές ζώνες του Ατλαντικού τα έτη 1992-1997 κατέγραψαν συγκεντρώσεις καδμίου 0,1 έως 0,46 mg/kg σε ολόκληρα καλαμάρια. Σε μια διαφορετική μελέτη που δημοσιεύτηκε το 2000, το κάδμιο στη σάρκα του είδους *Illex argentinus* κυμάνθηκε από 0,009 έως 0,02 mg/kg αναλόγως το γένος και στο στάδιο ανάπτυξης (Gerpe et al., 2000). Μεταγενέστερη έρευνα στα καλαμάρια του Ατλαντικού και συγκεκριμένα στην αλιευτική ζώνη της Σκοτίας έδειξε ότι τα καλαμάρια του είδους *Loligo forbesi* είχαν ως μέσο όρο 0,1 mg/kg κάδμιο και 0,6 mg/kg μόλυβδο. Η συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων ήταν πολλαπλάσια στο συκώτι των εξεταζόμενων δειγμάτων και για τα δύο μέταλλα, ξεπερνώντας μάλιστα τα 60 mg/kg στην περίπτωση του μολύβδου (Craig and Overnell, 2003).

Μια διαφορετική μελέτη σε 4 είδη καλαμαριού διεξήχθη τα έτη 2004 και 2005 στα νερά του Ατλαντικού και συγκεκριμένα στην αλιευτική ζώνη της Βρετανίας. Από τα 4 εξεταζόμενα είδη μόνο ένα (*Todaropsis eblanae*) ξεπέρασε τα 0,2 mg/kg καδμίου, ενώ ο υδράργυρος ήταν σε όλες τις περιπτώσεις <0,1 mg/kg. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στα καλαμάρια επηρεάζονται σημαντικά από το είδος, τη περιοχή αλίευσης, την εποχή αλίευσης και την ηλικία των καλαμαριών, με τα μικρά καλαμάρια να σημειώνουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων πιθανώς λόγω της διαφορετικής διατροφής των νεογνών (Pierce et al., 2008). Αντίστοιχα χαμηλά επίπεδα παρατηρήθηκαν και στο καλαμάρι *Loligo vulgaris*, αλιευμένο στις ακτές της Πορτογαλίας τα ίδια έτη 2004 και 2005. Από τα τρία βαρέα μέταλλα Cd, Pb και Hg την υψηλότερη συγκέντρωση παρουσίασε ο Pb, με μέσο όρο τα 0,1 mg/kg, χωρίς όμως αυτές οι τιμές να εμπνέουν ανησυχία για την ασφαλή κατανάλωση των καλαμαριών (Lourenço et al., 2009).

Ο Ινδικός Ωκεανός είναι μια από τις σημαντικότερες αλιευτικές ζώνες παγκοσμίως με τεράστιους ρυθμούς αύξησης της ποσότητας των αλιευμάτων από το 1950 μέχρι σήμερα. Οι μελέτες για τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στα κεφαλόποδα του Ινδικού Ωκεανού είναι περιορισμένες. Μελέτη πάνω στη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων σε καλαμάρια των ειδών *Loligo duvauceli* και *Doryteuthis sibogae* αλιευμένα στις νοτιοδυτικές ακτές της Ινδίας, έδωσε ως μέσους όρους για το κάδμιο 0,55 και 0,89 mg/kg, για το μόλυβδο 0,99 και 0,89 mg/kg και για τον υδράργυρο <0,05 και 0,07 mg/kg, επισημαίνοντας ότι υπήρχαν και αρκετά δείγματα με συγκεντρώσεις >1 mg/kg για Cd και Pb. Αξιοσημείωτη ήταν η συγκέντρωση καδμίου στο ήπαρ του καλαμαριού, η οποία ξεπέρασε τα 90 mg/kg σε ορισμένα δείγματα, αποδεικνύοντας την έκθεση των καλαμαριών σε μεγάλα επίπεδα ρύπανσης (Prafulla et al., 2001). Μια δεύτερη έρευνα που δημοσιεύτηκε το 2007 πάνω σε 67 διαφορετικά αλιευτικά είδη μεταξύ αυτών και σε καλαμάρια του γένους *Loligo sp.* έδειξε ότι οι συγκεντρώσεις του καδμίου είναι χαμηλότερες και κυμαίνονται μεταξύ 0,03-0,47 mg/kg, αντιστοίχως του μόλυβδου από 0,07-0,55 mg/kg, ενώ ο υδράργυρος έφτασε μέχρι τα 0,6 mg/kg (Sivaperumal et al., 2007).

Από τα αποτελέσματα των παραπάνω μελετών προκύπτουν τα εξής:

- Σχετικά τα καλαμάρια και τις διαφορετικές περιοχές αλίευσης, τα δείγματα από τον Ατλαντικό Ωκεανό παρουσιάζουν μικρότερη περιεκτικότητα τοξικών μετάλλων από αυτά στη Μεσόγειο και τον Ινδικό Ωκεανό.
- Η περιεκτικότητα σε κάδμιο και μόλυβδο στη σάρκα των καλαμαριών κυμαίνεται σε παρόμοιες συγκεντρώσεις και κάτω από 1 mg/kg που είναι το ανώτατο ανεκτό όριο, με τον μόλυβδο να σημειώνει σε ορισμένες περιπτώσεις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από το κάδμιο.
- Ενώ το κάδμιο έχει μελετηθεί πιο διεξοδικά, ο μόλυβδος είναι το μέταλλο που έχει παρουσιάσει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από τα τρία εξεταζόμενα τοξικά μέταλλα.
- Η περιεκτικότητα σε υδράργυρο βρίσκεται σε χαμηλότερα επίπεδα από το κάδμιο και το μόλυβδο, κάτω από 0,2 mg/kg και κατά περιπτώσεις βρίσκεται κάτω από το όριο ανίχνευσης των μελετών.
- Τα επίπεδα των βαρέων μετάλλων ακόμα και στο ίδιο είδος μπορούν να ποικίλουν σημαντικά, π.χ. Το κάδμιο στο *Illex argentinus* βρέθηκε σε συγκεντρώσεις από 0,1 μέχρι 0,74 mg/kg.
- Οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στα νωπά καλαμάρια είναι: το είδος, το φύλο, το μέγεθος/ηλικία, η περιοχή αλίευσης, η εποχή αλίευσης, η μετασυλλεκτική διαχείριση και η ποσότητα έκθεσης στα βαρέα μέταλλα.
- Οι ιστοί στους οποίους συσσωρεύονται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων είναι τα όργανα του πεπτικού συστήματος (ήπαρ, πάγκρεας κ.α.), το μελάνι και η πέννα (pen), ενώ σε όλες τις περιπτώσεις η σάρκα περιέχει τη χαμηλότερη συγκέντρωση σε τοξικά μέταλλα.
- Ανάλογα με το λόγο των συγκεντρώσεων των βαρέων μετάλλων στο πεπτικό αδένα/μανδύα, τα βαρέα μέταλλα μπορούν να διακριθούν σε τρεις κατηγορίες: αυτά που συγκεντρώνονται σε μικρό βαθμό στον πεπτικό αδένα (αναλογία <10), αυτά που συγκεντρώνονται σε μέτριο βαθμό (αναλογία >10 αλλά <50) και αυτά που συγκεντρώνονται σε μεγάλο βαθμό στον πεπτικό αδένα (αναλογία>50). Σύμφωνα με αυτόν τον κανόνα, το κάδμιο είναι μέταλλο υψηλής συγκέντρωσης, ενώ ο μόλυβδος και ο υδράργυρος είναι χαμηλής συγκέντρωσης (Miramand and Bentley, 1992, Raimundo et al., 2004).

8.3.2. Χταπόδια και αλιευτικές ζώνες της Μεσογείου, του Ατλαντικού Ωκεανού και του Ινδικού Ωκεανού

Τα χταπόδια είναι βενθικά ζώα και αυτό είναι μια από τις κύριες φυσιολογικές διαφορές τους με τα καλαμάρια, τα οποία θεωρούνται είδη ανοιχτού πελάγους. Τα είδη της οικογένειας των χταποδιών συναντώνται συνήθως σε όλο τον κόσμο και σε βάθη που κυμαίνονται κάτω από την ακτή μέχρι και πάνω από 1000 μ. Οι παγκόσμιες ποσότητες αλίευσής τους κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών έχουν κυμανθεί μεταξύ 150.000 και 230.000 τόνων ετησίως. Οι σημαντικότερες αγορές χταποδιών βρίσκονται στην Ασία και ιδιαίτερα στην Ιαπωνία, καθώς και σε αρκετές Μεσογειακές χώρες (FAO, 2006a).

Η σχετική με τη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων βιβλιογραφία στα χταπόδια είναι εκτεταμένη. Μια από τις προγενέστερες μελέτες δημοσιεύτηκε το 1980 και αφορούσε στο κοινό είδος *Octopus vulgaris* από αλιευτικές ζώνες της Μεσογείου. Από τα βαρέα μέταλλα εξετάστηκε μόνο το κάδμιο και βρέθηκε 0,08 mg/kg στον μανδύα, 1,2 mg/kg σε ολόκληρο το χταπόδι και 50 mg/kg στο ηπατοπάγκρεας, με το τελευταίο να συγκεντρώνει το 98% του συνολικού καδμίου (Miramand and Guary, 1980). Μια δεύτερη μελέτη σε χταπόδι *Octopus salutii* αλιευμένο στη Μεσόγειο έδωσε υψηλότερη συγκέντρωση καδμίου στον μανδύα, 0,40 mg/kg κατά μ.ο, ενώ ο υδράργυρος κυμάνθηκε σε χαμηλότερα επίπεδα, 0,27 mg/kg. Έρευνα στον Ινδικό Ωκεανό κατέγραψε μεγάλες συγκεντρώσεις καδμίου και στα δύο είδη χταποδιού που εξετάστηκαν με μέσους όρους 36,8 και 40,8 mg/kg, αλλά τα δείγματα περιλάμβαναν τα εντόσθια και οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε ξηρό βάρος. Τα επίπεδα του καδμίου ήταν μικρότερα στα μεγαλύτερα σε μέγεθος δείγματα, φανερώνοντας μια αρνητική συσχέτιση μεγέθους και συσσώρευσης καδμίου (Bustamante et al., 1998a).

Σε αυξημένες συγκεντρώσεις προσδιορίστηκαν ο μολύβδος και ο υδραργύρος σε χταπόδια του είδους *Octopus vulgaris*, αλιευμένα στην περιοχή της Terracina των δυτικών ακτών της Ιταλίας. Η περιεκτικότητα σε μόλυβδο κυμάνθηκε μεταξύ 0,5-0,75 mg/kg, ενώ ο υδράργυρος ήταν σε ακόμα υψηλότερα επίπεδα 0,76-0,85 mg/kg ξεπερνώντας το νομοθετικό όριο των 0,5 mg/kg για την ΕΕ. Τα δεδομένα είναι ένδειξη περιβαλλοντικής ρύπανσης των θαλάσσιων περιοχών αλίευσης των χταποδιών (Papetti and Rossi, 2009). Μια

διαφορετική μελέτη που αφορούσε στα διάφορα στάδια ανάπτυξης των κεφαλόποδων έδειξε ότι τα χταπόδια στο στάδιο της εκκόλαψης των νεογνών προστατεύονται από την έκθεση στα βαρέα μέταλλα, με εξαίρεση τον υδράργυρο. Η ηλικία, στην οποία παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη συσσώρευση των μετάλλων, είναι κατά το στάδιο εκθετικής ανάπτυξης. Τα ενήλικα χταπόδια παρουσίασαν μείωση της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων (Villanueva and Bustamante, 2006).

Ο Ατλαντικός Ωκεανός είναι μια περιοχή αλίευσης των χταποδιών που έχει διερευνηθεί εκτενώς. Δείγματα χταποδιών του είδους *Octopus vulgaris* εξετάστηκαν για τη συγκέντρωση μολύβδου σε διαφορετικούς ιστούς (καρδιά, πεπτικός αδένας, μανδύας). Η περιεκτικότητα στον μανδύα βρέθηκε κατά μέσο όρο στα 0,23 mg/kg, στον πεπτικό αδένα από 2,1 έως 13,5 mg/kg, ενώ στην καρδιά μεταξύ 0,87 έως 18,6 mg/kg. Τα αποτελέσματα αυτά αποδεικνύουν ότι ο μόλυβδος συσσωρεύεται στον πεπτικό αδένα και την καρδιά του χταποδιού (Seixas et al., 2002).

Μια άλλη ομάδα ερευνητών μελέτησε 12 είδη κεφαλόποδων από διάφορα σημεία αλίευσης του Ατλαντικού και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η περιοχή αλίευσης επηρεάζει σημαντικά τα επίπεδα του καδμίου στα χταπόδια και στα άλλα κεφαλόποδα, με τα αλιεύματα από τις περιοχές της υποαρκτικής ζώνης να παρουσιάζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις από τα αυτά των νοτίων ακτών (Bustamante et al., 1998). Μεταγενέστερη έρευνα σε 6 σημεία των ακτών της Πορτογαλίας στους ιστούς του *Octopus vulgaris* έδειξε υψηλότερες συγκεντρώσεις σε Cd, παρά σε Pb και Hg. Η συσσώρευση των βαρέων μετάλλων στον πεπτικό αδένα φαίνεται ότι ισχύει μόνο για το κάδμιο και όχι για τα άλλα δύο μέταλλα (Raimundo et al., 2004).

Σε παρόμοιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Seixas and Pierce, (2005), όπου κατά τη μελέτη συσσώρευσης του μολύβδου σε διαφορετικούς ιστούς του *Octopus vulgaris* δεν κατέγραψαν στατιστικά σημαντική επίδραση του παράγοντα «ιστός» στη συγκέντρωση του μολύβδου, αλλά αντίθετα βρήκαν άλλους παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση του μολύβδου στα χταπόδια, όπως είναι το φύλο και το βάρος. Σε διαφορετική μελέτη βρέθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συσσώρευση Pb-περιοχή αλίευσης (Naroleão et al., 2005).

Ανάλογος προσδιορισμός των βαρέων μετάλλων (Cd, Pb και Hg) έγινε και στο πλαίσιο έρευνας στις ακτές της Πορτογαλίας, τα έτη 2002 και 2003. Η περιεκτικότητα σε κάδμιο κυμάνθηκε από 0,4 έως 19 mg/kg, σε μόλυβδο από 2,9 έως 4,0 mg/kg και σε υδράργυρο από 0,15 έως 0,43 mg/kg. Αρκετά δείγματα ξεπέρασαν το ανώτατο ανεκτό όριο στο κάδμιο και ορισμένα στο μόλυβδο, ενώ και η εποχή αλίευσης επηρέασε τις συγκεντρώσεις των μετάλλων αυτών (Seixas et al., 2005). Σαφώς χαμηλότερες συγκεντρώσεις καταγράφηκαν στην ίδια περιοχή από τους Manso et al., (2007) με τα αποτελέσματα σε Cd και Pb να μην ξεπερνούν τα 0,6 mg/kg. Πρόσφατη έρευνα στις ακτές της Πορτογαλίας έδειξε χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε βαρέα μέταλλα, που βρέθηκαν κατά μέσο όρο 0,38-0,02-0,13 mg/kg για Cd-Pb-Hg αντίστοιχα (Lourenço et al., 2009).

8.3.3. Άλλα κεφαλόποδα

Δύο από άλλα είδη κεφαλόποδων με σημαντική εμπορική αξία είναι η σουπιά (*Sepia officinalis*) και το μοσχοχτάποδο (*Eledone moschata*), είδη που ενδημούν ιδιαίτερα στη θάλασσα της Μεσόγειου. Στον πίνακα 8.2. αναφέρονται οι συγκεντρώσεις του καδμίου, του μολύβδου και του υδραργύρου που έχουν βρεθεί σε δείγματα αυτών των κεφαλόποδων.

Πίνακας 8.2. Επίπεδα βαρέων μετάλλων στη σουπιά *Sepia officinalis* και στο μοσχοχτάποδο *Eledone moschata*.

Σουπιά (<i>Sepia officinalis</i>)				
Περιοχή αλίευσης	Cd	Pb	Hg	Αναφορά
English Channel (Ατλαντικός)	0,08	0,17		Miramand and Bentley, 1992
Ακτές Πορτογαλίας (Ατλαντικός)	0,31	0,04	0,15	Lourenço et al., 2009
Δυτικές ακτές Ιταλίας (Μεσόγειος)	ND	0,18		Manso et al., 2007
Μοσχοχτάποδο (<i>Eledone moschata</i>)				
Νοτιοανατολική Μεσόγειος	0,33		0,36	Storelli and Marcotrigiano, 2004
Μεσόγειος	0,49	0,1	0,44*	Storelli and al, 2010

* το δείγμα περιείχε επίσης *Eledone cirrhosa*, *Octopus salutii*

Από τα δεδομένα του πίνακα φαίνεται ότι η νοτιοανατολική Μεσόγειος παρουσιάζει δείγματα με αυξημένες περιεκτικότητες σε κάδμιο και υδραργύρο, σε σχέση με τον Ατλαντικό Ωκεανό, κάτι που έχει επισημανθεί και από άλλους ερευνητές (Manso et al., 2007). Επιπλέον, το μοσχοχτάποδο έχει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων σε σχέση με τη σουπιά, κάτι που κυρίως αποδίδεται στο περιβάλλον διαβίωσης του πρώτου. Ζώντας στο βυθό τα χταπόδια εκτίθενται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων, όπως το κάδμιο, το οποίο εμφανίζει αυξημένες συγκεντρώσεις στα βαθύτερα στρώματα του βυθού και όχι στα επιφανειακά ύδατα, ακολουθώντας παρόμοια συμπεριφορά με απαραίτητα στοιχεία π.χ φωσφόρο και νιτρικά (Storelli and Marcotrigiano, 1999, Dorneles et al., 2007). Επίσης και η διατροφή μπορεί να επηρεάζει τη συγκέντρωση καδμίου στο κεφαλόποδο *Eledone moschata*, εφόσον διατρέφεται κυρίως με άλλα κεφαλόποδα, ψάρια, οστρακοειδή και μαλάκια που ήδη περιέχουν βαρέα μέταλλα. Σημειώνεται ότι στις διατροφικές συνήθειες όλης της οικογένειας των Octopodidae περιλαμβάνεται και το φαινόμενο του κανιβαλισμού που πιθανώς ενισχύει τη συσσώρευση καδμίου στο σώμα των οργανισμών αυτών (Bustamante et al., 1998a; Dorneles et al., 2007).



Κεφάλαιο 9. Τοξικά μέταλλα και επεξεργασία τροφίμων

9.1. Ψάρια

Οι συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στα επεξεργασμένα ψάρια δίνουν μια ακριβέστερη εικόνα για την έκθεση των καταναλωτών στους χημικούς ρύπους. Η κονσερβοποίηση αποτελεί μια από τις μεθόδους επεξεργασίας που έχει μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό, διότι χρησιμοποιείται ευρύτατα, τόσο σε ανεπτυγμένες, όσο και σε αναπτυσσόμενες χώρες δίνοντας στον καταναλωτή μια εύκολη και οικονομική διατροφική λύση. Μερικά κονσερβοποιημένα είδη, όπως ο τόνος είναι τα κύρια αλιευτικά προϊόντα που καταναλώνονται στην πλειοψηφία των νοικοκυριών. Εκτιμάται ότι στις Η.Π.Α. οι κονσέρβες τόνου χρησιμοποιούνται στο 90% των νοικοκυριών, ενώ παράλληλα αποτελούν το 20-25% της συνολικής ποσότητας αλιευμάτων που καταναλώνονται (Ikem and Egiebor, 2005; Burger and Gochfeld, 2004).

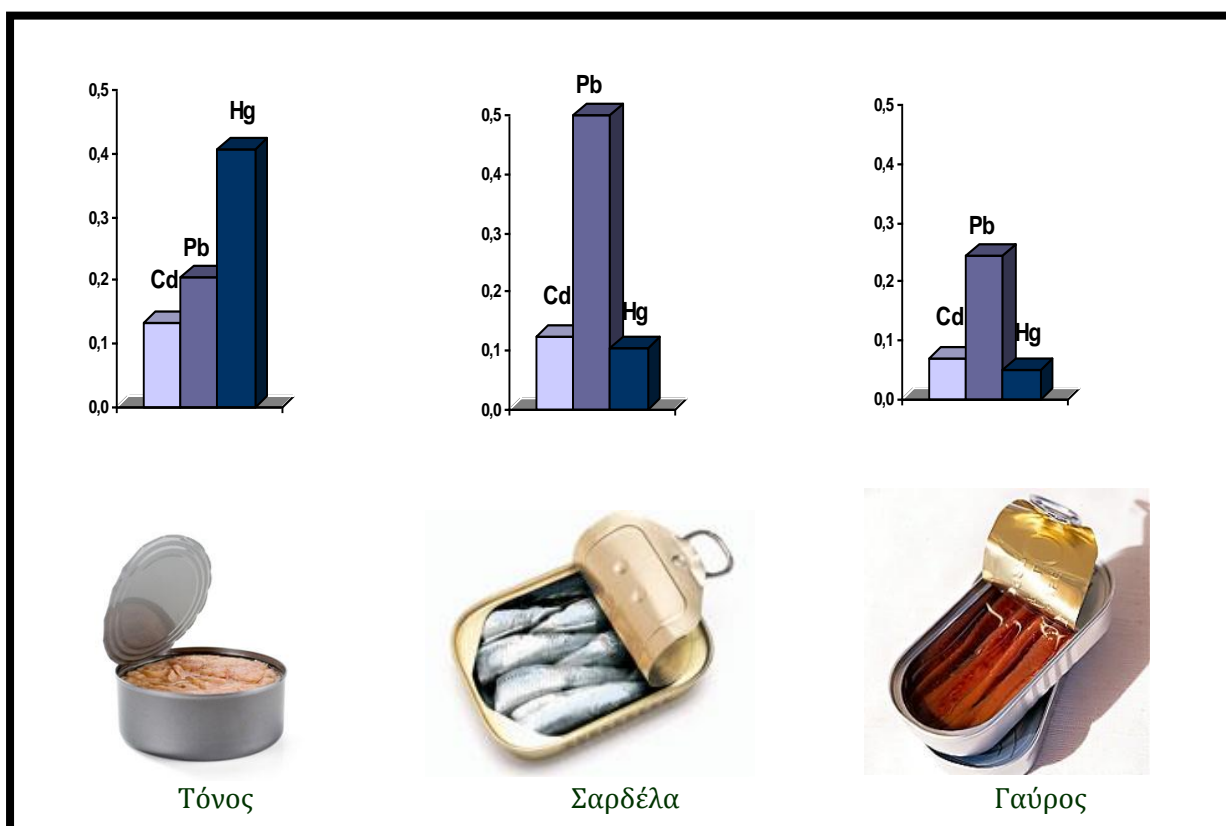
Εκτός από τον τόνο, υπάρχουν και άλλα κονσερβοποιημένα είδη ευρείας κατανάλωσης. Οι σαρδέλες αποτελούν ένα από αυτά, καθώς αποτελούν το κύριο κονσερβοποιημένο είδος ψαριού σε αρκετές χώρες, όπως τη Βραζιλία. Στην χώρα αυτή, υπολογίζεται ότι κονσερβοποιείται περίπου το 45% της παραγωγής σαρδέλας, ενώ μόνο το έτος 1996, η Βραζιλία κονσερβοποίησε 97.000 τόνους (Tarley et al., 2001). Η συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στα κονσερβοποιημένα προϊόντα αποτελεί και την κύρια ποιοτική παράμετρο επικινδυνότητας του τροφίμου ως προς τον καταναλωτή, εφόσον οι κονσέρβες αποτελούν ένα εμπορικά αποστειρωμένο προϊόν και κατά πλειοψηφία δεν

ευθύνονται για μικροβιολογικές λοιμώξεις. Στο σχήμα 9.1 δίνονται οι συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων από βιβλιογραφικές αναφορές που έχουν δημοσιευτεί τα τελευταία είκοσι έτη. Από τα δεδομένα των μελετών συμπεραίνονται τα εξής:

- Η συγκέντρωση του υδραργύρου είναι μεγαλύτερη στον τόνο. Αυτό αποδίδεται στην βιοσυσσώρευση του μετάλλου αυτού στην τροφική αλυσίδα, με αποτέλεσμα τα μεγαλύτερα σε μέγεθος ψάρια να παρουσιάζουν αυξημένες συγκεντρώσεις υδραργύρου σε σχέση με τα μικρότερα είδη (Voegborlo et al., 1999, Burger and Gochfeld, 2004). Οι συστηματικοί καταναλωτές τόνου μπορεί να παρουσιάζουν αυξημένες πιθανότητες εμφάνισης διαταραχών που να σχετίζονται με την πρόληψη υδραργύρου. Για τα παιδιά και τις γυναίκες έχει θεσπιστεί ως μέγιστο εβδομαδιαίο όριο πρόσληψης υδραργύρου τα 170μg, από την Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (EPA, 2006).
- Το προφίλ των βαρέων μετάλλων στο γαύρο και τη σαρδέλα είναι παρόμοιο, με τον μόλυβδο να είναι το μεγαλύτερο σε συγκέντρωση μέταλλο, ενώ αντίθετα ο υδράργυρος αποτελεί το βαρύ μέταλλο με τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις.
- Η περιεκτικότητα της σαρδέλας σε μόλυβδο είναι αυξημένη, πιθανώς λόγω περιβαλλοντικών και βιοχημικών παραμέτρων. Ο γαύρος και ο τόνος έχουν χαμηλότερη περιεκτικότητα σε μόλυβδο.
- Η περιεκτικότητα σε κάδμιο βρέθηκε στα ίδια επίπεδα και στα τρία είδη ψαριών.
- Ο μόλυβδος στη σαρδέλα και ο υδράργυρος στον τόνο απαντώνται σε κάποιες περιπτώσεις σε αυξημένες συγκεντρώσεις και θα πρέπει να παρακολουθούνται στενά, στο πλαίσιο προγραμμάτων ελέγχου (Burger and Gochfeld, 2004).

Ως παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στα κονσερβοποιημένα είδη έχουν καταγραφεί το είδος του ψαριού, η προέλευση, η ηλικία, το φύλο, η εποχή και ο τόπος αλίευσης (Tarley et al., 2001). Οι νεότερες εξελίξεις στη συσκευασία των τροφίμων έχουν εκσυγχρονίσει τις κονσέρβες με ειδικά επιχρίσματα, τα οποία ελαχιστοποιούν τη διαρροή τυχόν βαρέων μετάλλων από το υλικό συσκευασίας στο τρόφιμο (Emami Klansari et al., 2005).

Παρόλα αυτά, έχει αναφερθεί η πιθανότητα επιμόλυνσης των αλιευμάτων κατά τη διαχείριση των πρώτων υλών και της επεξεργασίας (Çelik and Oehlenschläger, 2007; Tuzen and Soylak, 2007), του μηχανολογικού εξοπλισμού της κονσερβοποίησης της ποιότητας του υλικού συσκευασίας, της διάρκειας και των συνθηκών αποθήκευσης, της συγκέντρωσης οξυγόνου στον υπερκείμενο χώρο της κονσέρβας και των φυσικοχημικών παραμέτρων του προϊόντος, όπως της τιμής pH (Voengborlo et al., 1999).



Σχήμα 9.1. Συγκεντρώσεις καδμίου, μολύβδου και υδραργύρου (mg/kg) σε τρία είδη δημοφιλών κονσερβοποιημένων ψαριών (Ashraf et al., 2006; Burger and Gochfeld, 2004; Çelik and Oehlenschläger, 2007; Iwegbue et al., 2009; Ikem and Egiebor, 2005; Emami Khansari et al., 2005; Mahalakshmi et al., 2012; Tarley et al., 2001; Tuzen and Soylak, 2007; Voengborlo et al., 1999).

Εκτός από την κονσερβοποίηση έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες και σε άλλους τρόπους επεξεργασίας των ιχθυηρών. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε ψάρια και άλλα προϊόντα από τις αγορές της νοτιοανατολικής Νιγηρίας βρέθηκε ότι ψάρια που είχαν υποστεί ξήρανση περιείχαν μερικώς αυξημένες συγκεντρώσεις καδμίου, 0,37 mg/kg d.w. (Onianwa et al., 2000). Σε μεταγενέστερη μελέτη των προϊόντων της Νιγηρίας εξετάστηκε η συγκέντρωση μολύβδου σε καπνιστά προϊόντα εκτεθειμένα σε καυσαέρια αυτοκινητοδρόμων και βρέθηκε υψηλή συγκέντρωση μολύβδου, από 8-12.5 mg/kg υποδεικνύοντας πιθανή επιμόλυνση κατά τη διαδικασία της ξήρανσης (Adekunle and Akinyemi, 2004).

Καθώς τα περισσότερα είδη ψαριών καταναλώνονται μετά από κάποιο είδος επεξεργασίας, όπως η θέρμανση, ξήρανση ή κονσερβοποίηση ερευνητικό ενδιαφέρον παρουσιάζει η επίδραση της επεξεργασίας στα αρχικά επίπεδα των βαρέων μετάλλων. Μια από τις προγενέστερες δημοσιευμένες έρευνες στη μεταβολή της χημικής σύστασης τριών ειδών ψαριών (σαρδέλα, τιλάπια και φαγκρί) κατά τις συνήθεις μεθόδους επεξεργασίας δημοσιεύτηκε από τους Steiner-Asiedu et al. (1991). Η έρευνα αφορούσε την περιεκτικότητα σε Fe, Cu, Zn και As και τα πειραματικά δεδομένα έδειξαν ότι κατά τη θερμική επεξεργασία αυξήθηκαν οι συγκεντρώσεις των μετάλλων αυτών, ενώ κατά το τηγάνισμα και τον καπνισμό παρατηρήθηκε αύξηση ή μείωση, ανάλογα με το είδος του ψαριού και του εξεταζόμενου μετάλλου (Steiner-Asiedu et al., 1991).

Μια μεταγενέστερη μελέτη στο ψάρι τιλάπια κατά την εφαρμογή επεξεργασίας με ατμό και ψησίματος σε φούρνο, έδειξε μικρή μείωση στη συγκέντρωση καδμίου και μολύβδου μετά από την επεξεργασία, χωρίς όμως να αναφέρεται αν οι διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές (Atta et al., 1993). Το έτος 2001 δημοσιεύτηκε σχετική μελέτη πάνω στη μεταβολή της συγκέντρωσης του αρσενικού κατά την επεξεργασία (Devesa et al., 2001). Οι ερευνητές ανέλυσαν δείγματα διαφόρων αλιευμάτων πριν και μετά την επεξεργασία με διαφορετικούς τρόπους, όπως μικροκύματα, βράσιμο, ατμό, grill και ψήσιμο. Βρέθηκε ότι η συγκέντρωση του αρσενικού μεταβάλλεται κατά την επεξεργασία. Σε κάποια είδη, όπως στον μπακαλιάρο παρατηρήθηκε αύξηση του αρσενικού κατά 27% μετά το ψήσιμο, ενώ σε άλλες περιπτώσεις παρατηρήθηκαν αυξομειώσεις. Σύμφωνα με τους ερευνητές, η μεταβολή της

συγκέντρωσης του αρσενικού κατά την επεξεργασία οφείλεται σε: α) συμπίκνωση του ιστού κατά τη θερμική επεξεργασία λόγω αποβολής νερού και πτητικών συστατικών και β) αποβολή μέρους του αρσενικού, λόγω της πτητικότητάς του με την αύξηση της θερμοκρασίας.

Η μεταβολή στη συγκέντρωση του υδραργύρου κατά τη θερμική επεξεργασία αποτέλεσε πεδίο μελέτης για διάφορες ερευνητικές ομάδες στις Η.Π.Α., λόγω της μεγάλης κατανάλωσης τόνου και παρόμοιων μεγάλων σε μέγεθος ψαριών από τα τοπικά νοικοκυριά. Μια από τις μελέτες επικεντρώθηκε στο ψάρι του είδους *Largemouth bass*, όπου διερευνώντας τη σχέση τηγανίσματος και επιπέδων υδραργύρου παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης υδραργύρου κατά 75%. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα επίπεδα υδραργύρου αλλάζουν σημαντικά μετά την επεξεργασία. Οι ερευνητές συμπλήρωσαν ότι η ανάλυση επικινδυνότητας για την έκθεση των καταναλωτών στον υδράργυρο θα πρέπει να στηρίζεται σε δεδομένα τελικών προϊόντων, ή στην τροποποίηση των αρχικών συγκεντρώσεων υδραργύρου με κατάλληλους συντελεστές ανάλογα με το είδος της επεξεργασίας (Burger et al., 2003).

Στην Τουρκία, σχετική έρευνα στο ψάρι λαβράκι έδειξε ότι οι συγκεντρώσεις των μετάλλων Pb, Cd, Cr, As και Ni μεταβάλλονται ανάλογα με το είδος της επεξεργασίας, παρουσιάζοντας διαφορετικές μεταβολές, ανάλογα με τον τύπο του μετάλλου (Ersoy et al., 2006).

Ανάλογη μελέτη στην Ισπανία σε δείγματα σαρδέλας, τόνου και μπακαλιάρου έδειξε μικρή αύξηση της περιεκτικότητας σε αρσενικό, κάδμιο, υδραργύρο και μόλυβδο κατά το τηγάνισμα, ενώ συμπεραίνεται ότι η συμπεριφορά των μετάλλων εξαρτάται μεταξύ άλλων και από το είδος της επεξεργασίας (Perreló et al., 2008), εφόσον σε ορισμένα μέταλλα, όπως το αρσενικό σε υψηλές θερμοκρασίες μπορεί να παρατηρηθεί απώλεια, λόγω πτητικότητας, διαλυτότητας και αλλαγή στις διάφορες χημικές μορφές (Devesa et al., 2008).

Οι Rasmussen and Morrissey το 2007 μελέτησαν την επίδραση της κονσερβοποίησης στη συγκέντρωση του υδραργύρου σε είδος τόνου (*Thunnus alalunga*) και βρήκαν αύξηση της συγκέντρωσης κατά 23%, χωρίς όμως τα επίπεδα του υδραργύρου στο τελικό προϊόν να ξεπερνούν τα νομοθετικά όρια. Η αύξηση του υδραργύρου μετά την κονσερβοποίηση αποδόθηκε στη μείωση του ποσοστού της υγρασίας μετά την κονσερβοποίηση.

Πρόσφατη έρευνα από έλληνες ερευνητές μελέτησε την επίδραση των οικιακών πρακτικών προετοιμασίας (τηγάνισμα και το ψήσιμο στη σχάρα) στα επίπεδα των μετάλλων Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb σε δημοφιλή ψάρια και οστρακοειδή της Μεσογείου. Όλες οι μαγειρικές πρακτικές επέφεραν αυξημένες συγκεντρώσεις μετάλλων σε σύγκριση με εκείνες των ωμών δειγμάτων, αποδίδοντας την αυξημένη περιεκτικότητα κυρίως στην απώλεια νερού κατά την επεξεργασία (Kalogeropoulos et al., 2012).

Συνοπτικά από τις διάφορες μελέτες προκύπτει ότι οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων είναι:

- α) το είδος του μετάλλου
- β) το είδος και οι συνθήκες της επεξεργασίας
- γ) η υγρασία και η μεταβολή της κατά την επεξεργασία
- δ) η συγκέντρωση των πρωτεϊνών
- ε) η διαλυτότητα ή πτητικότητα του μετάλλου κατά την επεξεργασία
- στ) η αλλαγή των χημικών μορφών του μετάλλου
- ζ) οι φυσικοχημικές μεταβολές των ιστών κατά την επεξεργασία

9.2. Κεφαλόποδα

Όπως και στην περίπτωση των ψαριών, τα κεφαλόποδα καταναλώνονται επίσης μετά από μια μορφή επεξεργασίας που περιλαμβάνει συνήθως και ένα βασικό στάδιο θέρμανσης. Οι συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στα επεξεργασμένα κεφαλόποδα δεν έχουν μελετηθεί τόσο πολύ όσο στα νωπά είδη, παρόλο που τα κεφαλόποδα καταναλώνονται σχεδόν πάντα μεταποιημένα.

Η ικανότητα συσσώρευσης μεγάλων ποσοτήτων καδμίου στον οργανισμό των καλαμαριών ώθησε την έρευνα προς το μέταλλο αυτό και δευτερευόντως σε άλλα βαρέα μέταλλα, όπως στον μόλυβδο και στον υδράργυρο. Μια από τις προγενέστερες έρευνες στο καλαμάρι *Loligo patagonica* έδειξε ότι οι συγκεντρώσεις του καδμίου επηρεάζονται από τον τρόπο της μεταλλευτικής διαχείρισης των καλαμαριών, από την κατάψυξη και την απόψυξη. Η σύγκριση μεταξύ νωπών και επεξεργασμένων δειγμάτων (επανακατάψυξη και κονσερβοποίηση) έδειξε ότι κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τα βαρέα μέταλλα ενδέχεται να μεταναστεύσουν από τους ιστούς με μεγαλύτερη συγκέντρωση, όπως τα εντόσθια στα κυρίως εδώδιμα μέρη, όπως είναι ο μανδύας του καλαμαριού (Falandysz, 1989).

Οι συνηθέστερες μέθοδοι θερμικής επεξεργασίας είναι ο βρασμός με νερό ή με ατμό, η κονσερβοποίηση, το ψήσιμο και η ξήρανση. Ένας από τους πρώτους ερευνητές που ασχολήθηκε με τα θερμικώς επεξεργασμένα κεφαλόποδα ήταν ο Z.Falandysz (1989; 1991), όπου στο καλαμάρι *Loligo patagonica* βρήκε σημαντικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του καδμίου στο μανδύα των κονσερβοποιημένων καλαμαριών, οι οποίες αποδόθηκαν στη μετανάστευση του καδμίου από τα εντόσθια στο μανδύα κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Στο ίδιο πείραμα δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση του μετάλλου μετά την κονσερβοποίηση, αν και τα εξεταζόμενα δείγματα είχαν μεγάλη παραλλακτικότητα μεταξύ τους και επομένως δε μπόρεσαν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα ως προς τον παράγοντα αυτό (Falandysz, 1989).

Ο ίδιος ερευνητής σε μεταγενέστερη μελέτη σε κονσερβοποιημένο καλαμάρι του είδους *Loligo opalescens*, το οποίο, λόγω του μικρού του μεγέθους, χρησιμοποιείται ευρέως για κονσερβοποίηση, κατέγραψε μέσες συγκεντρώσεις για το κάδμιο 0,86-1,3 mg/kg και για το μόλυβδο 0,27-0,70 mg/kg (μανδύας). Σε σύγκριση με τα νωπά δείγματα, παρατηρήθηκε αύξηση για το κάδμιο περίπου επί έναν παράγοντα ίσο με 4, ενώ αντίθετα για τον μόλυβδο παρατηρήθηκε μείωση της τάξης του -65%, λόγω απώλειας του μετάλλου στο υγρό πλήρωσης (Falandysz, 1991).

Μια από τις σχετικές έρευνες παρουσιάστηκε στην Ελλάδα το 2001 και αφορούσε σε κονσερβοποιημένα είδη του καλαμαριού *Todarodes saggitatus* και του μοσχοχτάποδου *Eledone moschata*. Από τα βαρέα μέταλλα που εξετάστηκαν το κάδμιο παρουσίασε συγκεντρώσεις 0,421 και 0,267 mg/kg, για το καλαμάρι και το μοσχοχτάποδο αντίστοιχα. Ορισμένα αποτελέσματα βρέθηκαν πάνω από το ανώτατο ανεκτό όριο και αποδόθηκαν στην παρουσία των εντοσθίων στα κονσερβοποιημένα καλαμάρια, που όπως αναφέρθηκε και παραπάνω συγκρατούν το μεγαλύτερο ποσοστό του καδμίου στα κεφαλόποδα (Georgantelis et al., 2001).

Εκτός από το κάδμιο και τον μόλυβδο, ένα από τα άλλα τοξικά μέταλλα που έχει διερευνηθεί στα κεφαλόποδα είναι το αρσενικό. Μελέτη στην επίδραση του βρασμού, της άτμισης και του ψησίματος με grill στη συγκέντρωση του συνολικού αρσενικού σε καλαμάρι, έδειξε ότι αυτή επηρεάζεται σημαντικά από το είδος της επεξεργασίας. Τη μεγαλύτερη συγκέντρωση αρσενικού μετά από την επεξεργασία έδωσαν τα βρασμένα δείγματα, ενώ η στατιστική επεξεργασία έδειξε σημαντική διαφορά στα δείγματα πριν και μετά την επεξεργασία των καλαμαριών (Devesa et al., 2001).

Συνοπτικά, οι παράγοντες που φαίνονται ότι επηρεάζουν τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων είναι:

- η απομάκρυνση νερού, λόγω της θερμικής επεξεργασίας
- η απώλεια πτητικών συστατικών κατά τη θέρμανση
- η ανακατανομή των πρωτεϊνών – φορέων των βαρέων μετάλλων (μεταλλοθειονινών)
- η μετουσίωση πρωτεϊνών, η οποία οδηγεί σε απομάκρυνσή τους, λόγω διαλυτότητας
- η αποβολή λίπους
- η μετανάστευση του καδμίου από τα εντόσθια στο μανδύα των κεφαλόποδων
- η απομάκρυνση μέρους του μόλυβδου, λόγω αύξησης της διαλυτότητάς του
- η απομάκρυνση μέρους του αρσενικού, στις υψηλές θερμοκρασίες επεξεργασίας, ιδιαίτερα όταν είναι δεσμευμένο από πρωτεΐνες ή άλλες οργανικές ενώσεις.



Κεφάλαιο 10. Φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης

10.1. Ατομική φασματοσκοπία

Οι τεχνικές της αναλυτικής φασματοσκοπίας σχετίζονται με το διαχωρισμό, την ανίχνευση και την καταγραφή ενεργειακών μεταβολών που συνοδεύουν τους πυρήνες, τα ιόντα, τα άτομα ή τα μόρια των ουσιών. Οι μεταβολές αυτές αφορούν την εκπομπή, την απορρόφηση ή τη διάχυση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας ή των σωματιδίων. Η καταγραφή αυτών των μεταβολών δίνει τα φάσματα και επομένως η φασματομετρία αποτελεί τον κλάδο των αναλυτικών τεχνικών που αποτυπώνει και ερμηνεύει ποιοτικά και ποσοτικά τη συμπεριφορά των φασμάτων. Οι φασματοσκοπικές τεχνικές ταξινομούνται σε διάφορες κατηγορίες ανάλογα με το μήκος κύματος, την απορρόφηση ή την εκπομπή μιας συγκεκριμένης ακτινοβολίας και την ενεργειακή κατάσταση του δείγματος (π.χ. φλογοφασματομετρία, φασματομετρία εκπομπής με πλάσμα κλπ.).

Η φασματοσκοπία έχει διαχωριστεί σε δύο μεγάλες κατηγορίες ανάλογα με τη φύση των σωματιδίων της ύλης τα οποία μελετά. Η μελέτη των ενεργειακών μεταβολών των μορίων αποτελεί τον κλάδο της μοριακής φασματοσκοπίας, ενώ οι ενεργειακές μεταβολές των ατόμων περιλαμβάνονται στην ατομική φασματοσκοπία. (Στράτης κ.α., 2004).

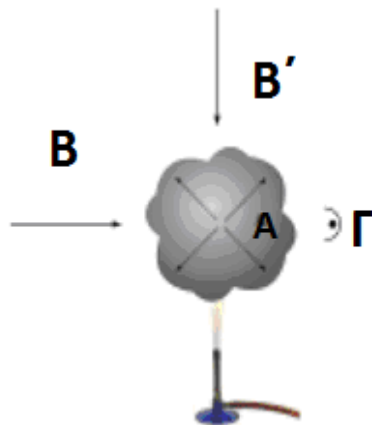
Η ατομική φασματοσκοπία βασίζεται στην κβαντική θεωρία του Max Planck. Όταν άτομα, ιόντα ή μόρια απορροφούν ή εκπέμπουν ακτινοβολία, για να μεταβούν από μια ενεργειακή κατάσταση σε άλλη, η συχνότητα ν ή το μήκος κύματος λ της ακτινοβολίας σχετίζεται με τη διαφορά των ενεργειών στις δύο καταστάσεις και υπολογίζεται από τη σχέση:

$$E_1 - E_0 = h\nu = h\frac{c}{\lambda}$$

Όπου E_1 η ενέργεια της υψηλότερης και E_0 η ενέργεια της χαμηλότερης κατάστασης, c η ταχύτητα του φωτός και h η σταθερά του Planck.

Η ατομική φασματοσκοπία περιλαμβάνει τρεις τεχνικές, την Φασματομετρία Ατομικής Εκπομπής, την Φασματομετρία Ατομικής Απορρόφησης και τη Φασματομετρία Ατομικού Φθορισμού. Στο σχήμα 10.1. περιγράφεται η αρχή λειτουργίας της ατομικής φασματοσκοπίας. Στο σχήμα αυτό θεωρούμε ότι υπάρχει ένα νέφος από άτομα του στοιχείου A. Αν σε αυτό το νέφος δοθεί ενέργεια, μερικά από τα άτομα του A θα μεταπηδήσουν σε από τη βασική στάθμη ενέργειας σε υψηλότερες στάθμες ενέργειας E_i και E_j . Η ένταση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας που εκπέμπουν τα άτομα στη διεγερμένη κατάσταση, αποτελεί ένα μέτρο του αριθμού των ατόμων που έχουν διεγερθεί και συνεπώς του ολικού αριθμού των ατόμων στο νέφος των ατόμων. Αν η ένταση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας ενισχυθεί και μετρηθεί με ένα κατάλληλο σύστημα (Γ), τότε η όλη διάταξη αποτελεί την αρχή της Φασματομετρίας Ατομικής Εκπομπής (ΦΑΕ).

Στη διαφορετική περίπτωση που προσπέσει στο νέφος των ατόμων μία ακτινοβολία, της ίδιας συχνότητας ν , τότε η απορρόφηση της ακτινοβολίας αποτελεί πάλι ένα μέτρο της ποσοτικοποίησης των ατόμων στο χώρο του νέφους. Η διάταξη αυτή αποτελεί την αρχή της Φασματομετρίας Ατομικής Απορρόφησης (ΦΑΑ).



Σχήμα 10.1. Αρχή λειτουργίας της ατομικής φασματοσκοπίας. A: Νέφος ατόμων, B, B': Δέσμη διερχόμενης ακτινοβολίας ομοαξονικά και κάθετα με τον ανιχνευτή αντίστοιχα και Γ: Ανιχνευτής (Στράτης κ.α., 2004).

10.2. Φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης

Είναι γνωστό ότι τα άτομα ενός στοιχείου απορροφούν ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία σε συγκεκριμένα μήκη κύματος, χαρακτηριστικά των ατομοποιημένων στοιχείων. Η αρχή της μεθόδου της ατομικής απορρόφησης βασίζεται στη μέτρηση της μείωσης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που απορροφάται από ένα νέφος ατόμων, το οποίο έχει ατομοποιηθεί με την εφαρμογή κατάλληλων συνθηκών ατομοποίησης. Η ένταση της απορρόφησης είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των ατόμων στο ατομικό νέφος και συνεπώς ανάλογη με τη συγκέντρωση του στοιχείου στο διάλυμα από το οποίο δημιουργήθηκε το ατομικό νέφος. Η φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης συνδέεται με το νόμο των Beer-Lambert:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = K_v \beta \log e = 0,4343 K_v \beta$$

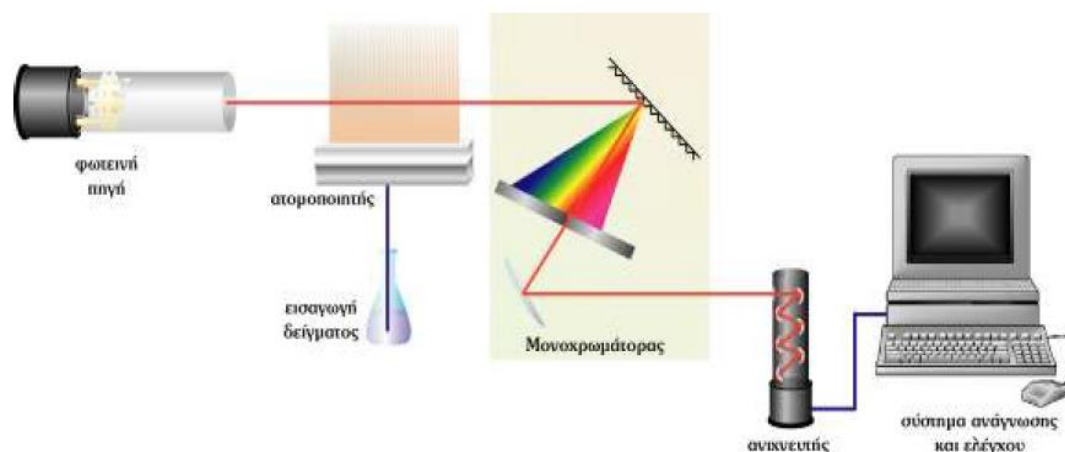
όπου A: απορρόφηση

I_0 : ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας

I: ένταση της εξερχόμενης ακτινοβολίας

K_v : συντελεστής ανάλογος του αριθμού των ατόμων ανά μονάδα όγκου
 β : το μήκος που διασχίζει η ακτινοβολία μέσα από το ομοιογενές ατομικό νέφος (Στράτης κ.α., 2004).

Στο σχήμα 10.2. δίνονται τα βασικά μέρη μίας διάταξης ατομικής απορρόφησης. Η διάταξη αποτελείται από μία μονοχρωματική φωτεινή πηγή, το χώρο εισαγωγής και ατομοποίησης του δείγματος, το μονοχρωμάτορα, τον ανιχνευτή και τέλος το σύστημα ανάγνωσης και ελέγχου. Για καλύτερη ευαισθησία απαιτείται μια πηγή ακτινοβολίας στενού πλάτους γραμμής της τάξης των 10-5 nm. Η ακτινοβολία αυτή μπορεί να παραχθεί είτε από τις λυχνίες κούλης καθόδου, είτε από τις λυχνίες εκκένωσης χωρίς ηλεκτρόδια.



Σχήμα 10.2. Διάταξη ατομικής απορρόφησης (Στράτης κ.α., 2002).

10.3. Φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης φούρνου θερμαινόμενου γραφίτη

Στη φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης με φούρνο ηλεκτρικά θερμαινόμενου γραφίτη, ως ατομοποιητής του δείγματος χρησιμοποιείται μία πλατφόρμα από γραφίτη, πάνω στην οποία εγχύεται το δείγμα και θερμαίνεται ηλεκτρικά, οπότε αναπτύσσονται ιδιαίτερα υψηλές θερμοκρασίες, οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα την ατομοποίηση του δείγματος στο εσωτερικό του φούρνου, από τον οποίο διέρχεται μονοχρωματική ακτινοβολία και απορροφάται από τα άτομα του δείγματος. Ο φούρνος θερμαινόμενου γραφίτη είναι γνωστός και ως ηλεκτροθερμικός ατομοποιητής, οπότε η τεχνική συμβολίζεται ως ET-AAS (electrothermal atomic absorption spectrometry). Στη συνήθη μορφή της τεχνικής το δείγμα, μερικών μόλις μL , εγχύεται στην

κυψελίδα του γραφίτη με τη βοήθεια μικροπιπέτας ή αυτόματου δειγματολήπτη. Κατά τη θέρμανση της κυψελίδας το δείγμα υπόκειται στις παρακάτω μεταβολές:

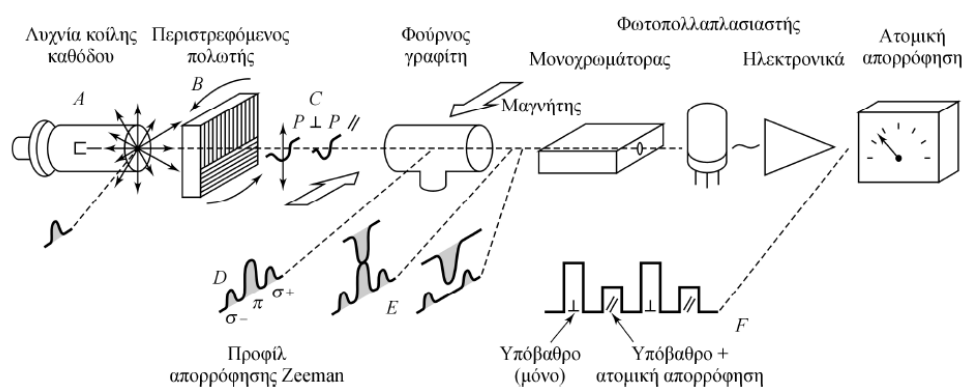
- 1) Ξήρανση. Αρχικά γίνεται απομάκρυνση του διαλύτη, στην περίπτωση των υγρών δειγμάτων ή απομάκρυνση της υγρασίας και των πτητικών συστατικών στην περίπτωση των στερεών δειγμάτων.
- 2) Πυρόλυση. Το δείγμα τεφροποιείται, δηλαδή γίνεται αποσύνθεση των συστατικών που συνυπάρχουν στο δείγμα, και τα προϊόντα της οργανικής ύλης απομακρύνονται με την παροχή αερίου
- 3) Ατομοποίηση. Τα προσδιοριζόμενα μεταλλικά συστατικά μετατρέπονται σε άτομα, λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που αναπτύσσονται.
- 4) Καθαρισμός. Προκειμένου να απομακρυνθούν τα όποια υπολείμματα από την πλατφόρμα πραγματοποιείται αύξηση της θερμοκρασίας στον υψηλότερο βαθμό για μερικά δευτερόλεπτα.

Τα πλεονεκτήματα του φούρνου γραφίτη είναι η αυξημένη ευαισθησία λόγω της ομοιόμορφης καύσης, της χρήσης υψηλότερων θερμοκρασιών ατομοποίησης και της ατομοποίησης ολόκληρου του δείγματος, καθώς και η δυνατότητα χρήσης μικρής ποσότητας δείγματος. Η χρήση του φούρνου γραφίτη εμφανίζει το μειονέκτημα της μειωμένης επαναληψιμότητας, ειδικά λόγω δυσκολιών εισαγωγής του δείγματος που μπορούν να περιοριστούν με τη χρήση αυτόματου δειγματολήπτη (Στράτης κ.α., 2002).

10.4. Το φαινόμενο και η διόρθωση υπόβαθρου Zeeman

Ιδανικά, κατά τη διάρκεια μέτρησης της ατομικής απορρόφησης μέσα στο φούρνο γραφίτη, θα πρέπει να υπάρχει μόνο ένα στοιχείο, το οποίο να δίνει ένα μοναδικό σήμα κατά τη στιγμή της ατομοποίησης. Στην πράξη όμως και άλλα στοιχεία μπορούν να παραχθούν κατά τη διαδικασία ατομοποίησης. Αν αυτά τα στοιχεία έχουν την ικανότητα να απορροφούν στο μήκος κύματος της ανάλυσης, τότε τα αποτελέσματα δε θα είναι έγκυρα, καθώς θα έχει γίνει υπερεκτίμηση της συγκέντρωσης του στοιχείου προς ανίχνευση και ποσοτικοποίηση. Το φαινόμενο επηρεάζεται περισσότερο από κατάλοιπα στερεών σωματιδίων, καθώς και μοριακών στοιχείων που σχηματίζονται κατά τη διαδικασία αποσύνθεσης του υποστρώματος. Η διόρθωση της επίδρασης του

υποστρώματος επιτυγχάνεται με την εφαρμογή του φαινομένου Zeeman. Το φαινόμενο Zeeman αναφέρεται στην ικανότητα ενός ισχυρού μαγνητικού πεδίου να διασπά τις ατομικές δέσμες απορρόφησης σε διάφορες υποδιαιρέσεις. Η σχηματοποίηση των υποδιαιρέσεων μπορεί να είναι απλή αλλά και αρκετά σύνθετη, ανάλογα με το στοιχείο έκθεσης. Αυτό το φαινόμενο βρίσκει χρήσιμη εφαρμογή στο σύστημα ατομικής απορρόφησης, διότι αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο διόρθωσης του σήματος από το υπόβαθρο και επομένως βελτιστοποιεί την ακρίβεια της μέτρησης (Δάφτης, 2007).



Σχήμα 10.3. Σχηματική παράσταση ενός ηλεκτροθερμικού οργάνου απορρόφησης που διαθέτει διόρθωση υποβάθρου βασισμένη στο φαινόμενο Zeeman. **A:** λυχνία κοίλης καθόδου, **B:** περιστρεφόμενος πολωτής, **C:** συνιστώσες πολωμένες δέσμες κάθετες μεταξύ τους, **D:** σχάση των ενεργειακών επιπέδων και δημιουργία τριών κορυφών, **E:** απορρόφηση της ακτινοβολίας και **F:** περιοδικό σχήμα απορρόφησης (Δάφτης, 2007).

Στο σχήμα 10.3. απεικονίζεται μία διάταξη ηλεκτρικά θερμαινόμενου γραφίτη με διόρθωση Zeeman. Η μη πολωμένη ακτινοβολία προέρχεται από μία κοινή λυχνία κοίλης καθόδου A και διέρχεται από τον περιστρεφόμενο πολωτή B, ο οποίος διαχωρίζει τη δέσμη σε δύο συνιστώσες πολωμένες σε επίπεδα κάθετα μεταξύ τους C. Οι δέσμες αυτές διέρχονται μέσα από τον φούρνο γραφίτη, ο οποίος περιβάλλεται από ένα μόνιμο μαγνητικό πεδίο, το οποίο σχάζει τα ενεργειακά επίπεδα κατά τρόπο που παράγει τρεις κορυφές απορρόφησης, D. Κατά τη διάρκεια της χρονικής περιόδου, κατά την οποία η ακτινοβολία της πηγής είναι πολωμένη στο ίδιο επίπεδο με το μαγνητικό πεδίο, πραγματοποιείται απορρόφηση της ακτινοβολίας από το προσδιοριζόμενο

στοιχείο, καθώς και από τα στοιχεία υποστρώματος. Κατά τη διάρκεια της υπόλοιπης μισής περιόδου το προσδιοριζόμενο στοιχείο δεν απορροφά. Πλατιές ζώνες μοριακής απορρόφησης, καθώς και σκέδαση από τα προϊόντα ατομοποίησης του υποστρώματος, συνεχίζουν να απορροφούν και οδηγούν σε ένα περιοδικό σχήμα απορρόφησης, E. Το ηλεκτρονικό σύστημα συλλογής και επεξεργασίας των αποτελεσμάτων που λαμβάνεται είναι κατάλληλα προγραμματισμένο, ώστε να αφαιρεί την απορρόφηση κατά το χρονικό διάστημα κάθετης θέσης, από την απορρόφηση που λαμβάνεται κατά το χρονικό διάστημα παράλληλης θέσης, ώστε τελικά να προκύπτει η διορθωμένη τιμή της απορρόφησης (Δάφτσης, 2007).

10.5. Χημικοί τροποποιητές

Λόγω της παρουσίας υψηλής συγκέντρωσης χλωριούχου νατρίου στα δείγματα των ψαριών και των θαλασσινών και για τη δυνατότητα χρήσης υψηλότερων θερμοκρασιών τεφροποίησης, ατομοποίησης, καθώς και για τη βελτίωση της αναλυτικής ευαισθησίας, κρίθηκε απαραίτητη η χρήση χημικού τροποποιητή και συγκεκριμένα διαλύματος νιτρικού παλλαδίου 0,1% (w/v). Οι χημικοί τροποποιητές συμβάλλουν στη δημιουργία μιας θερμικά πιο σταθερής μορφής του προσδιοριζόμενου στοιχείου, με πολλαπλά οφέλη, καθώς το μέταλλο ατομοποιείται σε μεγαλύτερη θερμοκρασία και ελαχιστοποιούνται τα φαινόμενα χημικών παρεμποδίσεων (Δάφτσης, 2007).

10.6. Όξινη πέψη με μικροκύματα

Η διαδικασία της όξινης υγρής πέψης επιλέχθηκε με στόχο την πλήρη αποσύνθεση των ιστών των ιχθυηρών και τη διαλυτοποίηση των προσδιοριζόμενων στοιχείων σε όξινο υδατικό διάλυμα, το οποίο στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε στο σύστημα της ατομικής απορρόφησης για τον ποσοτικό προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων.

Η υγρή πέψη είναι η βασική τεχνική αποσύνθεσης της οργανικής μορφής των ιστών. Κατά την πέψη των οργανικών δειγμάτων, στους οποίους ανήκουν και οι ιστοί των ψαριών, πραγματοποιείται καταστροφή της οργανικής ύλης του δείγματος και μετατροπή του άνθρακα σε διοξείδιο του άνθρακα. Με τον τρόπο

αυτό όλα τα μεταλλικά στοιχεία που βρίσκονται συναρμολογημένα στα οργανικά μόρια απελευθερώνονται και διαλυτοποιούνται στο τελικό διάλυμα.

Κύριοι στόχοι της διαδικασίας της όξινης υγρής πέψης είναι:

- Η πλήρης διαλυτοποίηση του δείγματος και η μεταφορά των προσδιοριζόμενων στοιχείων σε διαλυτή μορφή.
- Η πλήρης διάσπαση του αρχικού υποστρώματος του δείγματος.
- Η αποφυγή απωλειών του δείγματος κατά την κατεργασία και η αποφυγή επιμόλυνσης αυτού.
- Η μείωση του χρόνου κατεργασίας.

Κατά την υγρή πέψη γίνεται κατεργασία του δείγματος με οξύ ή μίγμα οξέων σε ανοιχτά ή κλειστά δοχεία και θέρμανση με μικροκύματα. Τα κλειστά δοχεία περιορίζουν τις απώλειες του δείγματος, ενώ ταυτόχρονα με τη θέρμανση παρατηρείται και αύξηση της πίεσης στο εσωτερικό των δοχείων, η οποία αυξάνει την απόδοση της πέψης του δείγματος και ταυτόχρονα περιορίζει τον απαιτούμενο χρόνο πέψης των δειγμάτων.

Σημαντικές παράμετροι από τεχνικής πλευράς για την όξινη πέψη είναι η επίτευξη της μέγιστης ασφάλειας κατά τη διαδικασία, η επαναληψιμότητα και η ευχρηστικότητα της μεθόδου. Η θερμοκρασία αποτελεί σημαντική παράμετρο κατά τη διαδικασία της όξινης πέψης γιατί επηρεάζει την κινητική των αντιδράσεων που πραγματοποιούνται, καθώς και τον απαιτούμενο χρόνο για την ολοκλήρωση της πέψης. Επίσης, όσο υψηλότερη είναι η θερμοκρασία, κατά την πέψη ενός βιολογικού δείγματος, τόσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός οξειδωσης της οργανικής ύλης του δείγματος που επιτυγχάνεται. Από πρακτικής πλευράς, όμως, όσο υψηλότερη είναι η θερμοκρασία, τόσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος που απαιτείται για την ψύξη του δείγματος. Απαιτείται λοιπόν σωστή επιλογή της θερμοκρασίας πέψης προκειμένου και η οργανική ύλη να αποσυντίθεται πλήρως, αλλά ταυτόχρονα να περιορίζεται ο χρόνος της διαδικασίας (Δάφτσης, 2007).

Η διαδικασία της όξινης πέψης επηρεάζεται από ένα σύνολο παραμέτρων:

- τα χρησιμοποιούμενα αντιδραστήρια
- η ποσότητα αντιδραστηρίων
- η θερμοκρασία
- τα δοχεία πέψης

- ο χρόνος πέψης
- η συσκευή πέψης

Το νιτρικό οξύ θεωρείται ως το κύριο όξινο αντιδραστήριο πέψης και χρησιμοποιείται ευρέως για την αποσύνθεση της οργανικής ύλης των δειγμάτων, ενώ ταυτόχρονα εμφανίζει το πλεονέκτημα να μη δημιουργεί παρεμποδίσεις στις περισσότερες περιπτώσεις και είναι εμπορικώς διαθέσιμο σε υψηλή καθαρότητα. Το νιτρικό οξύ προτιμάται έναντι του υπερχλωρικού και του θεικού γιατί προσθέτει πολύ λιγότερες παρεμποδίσεις. Σε ορισμένα αλιεύματα με αυξημένη συγκέντρωση λίπους, όπως είναι οι σαρδέλες και οι γαύρος, ταυτόχρονα με τη χρήση νιτρικού οξέος 65% χρησιμοποιήθηκε επιπλέον διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου 30% προκειμένου να επιτευχθεί η πλήρης διαλυτοποίηση του δείγματος και να αυξηθεί η ποιότητα της πέψης. Με τον τρόπο αυτό πραγματοποιείται η πλήρης καταστροφή των λιπαρών ιστών (Δάφτης, 2007).

Η θερμοκρασία, όπως προαναφέρθηκε, καθορίζει τον χρόνο της πέψης, καθώς και την απόδοσή της σε σημαντικό βαθμό. Η θερμοκρασία που θα εφαρμοστεί καθορίζει σε ένα βαθμό και τα δοχεία στα οποία θα πραγματοποιηθεί η πέψη. Τα δοχεία πρέπει να εμφανίζουν την απαιτούμενη αντοχή στη θερμοκρασία που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί. Επίσης, πρέπει να εμφανίζουν αντοχή στη θέρμανση, μηχανική αντοχή, αντοχή στα οξέα και στα αλκαλικά διαλύματα. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην καθαριότητα των δοχείων που θα χρησιμοποιηθούν κατά τη διαδικασία της πέψης, μιας και μπορεί να προκαλέσουν επιμόλυνση του δείγματος και να οδηγήσουν σε συστηματικά σφάλματα κατά την ανάλυση.

Κεφάλαιο 11. Στόχος της διατριβής

Τα τοξικά μέταλλα αποτελούν έναν από τους σημαντικότερους διατροφικούς κινδύνους για το καταναλωτικό κοινό. Τα αρνητικά αποτελέσματα της κατανάλωσης βαρέων μετάλλων δεν είναι άμεσα εμφανή, η μακροχρόνια όμως διατροφική έκθεση πλήττει σοβαρά τα ζωτικά όργανα, τις μεταβολικές λειτουργίες και την αναπαραγωγική ικανότητα του ανθρώπινου οργανισμού, ενώ συνδέεται στενά με σημαντικής επικινδυνότητας ασθένειες, όπως τον καρκίνο και πολλές νευρολογικές διαταραχές. Η ανάλυση επικινδυνότητας των βαρέων μετάλλων, ιδιαίτερα στα τρόφιμα από θαλασσινά και ψάρια, βρίσκεται συνεχώς στο επίκεντρο τόσο της έρευνας, όσο και των διεθνών φορέων στον κλάδο των τροφίμων, καθώς τα βαρέα μέταλλα μεταφέρονται μέσω του υδάτινου οικοσυστήματος στον οργανισμό των ιχθυηρών και μέσω της τροφικής αλυσίδας στον άνθρωπο.

Στόχο της διατριβής αυτής ήταν ο προσδιορισμός των τοξικών μετάλλων (Cd, Pb) σε ψάρια μεγάλης εμπορικής αξίας (σαρδέλα *Sardinia pilchardus* και γαύρος *Engraulis encrasicolus*) που ενδημούν στην ευρύτερη περιοχή της Ελλάδας, αλλά και της Μεσογείου, η οποία πλήττεται ιδιαίτερα από τη θαλάσσια ρύπανση και την παρουσία βαρέων μετάλλων στις αλιευτικές της ζώνες. Παράλληλα, αξιολογήθηκε και ο βαθμός επιμόλυνσης στο είδος καλαμάρι Καλιφόρνιας *Loligo opalescens*, το οποίο αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα είδη θαλασσινών που επιλέγονται για μεταποίηση και ειδικά κονσερβοποίηση, με ευρεία κατανάλωση στην Ελλάδα και στο εξωτερικό.

Τα θαλασσινά που επιλέχθηκαν αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της ελληνικής και μεσογειακής διατροφής, ενώ μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα για τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων Cd και Pb σε νωπά και μεταποιημένα ψάρια που αλιεύονται στην Ελλάδα. Στόχος της μελέτης ήταν ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων καδμίου και μολύβδου σε 6 διαφορετικές αλιευτικές περιοχές, καλύπτοντας τις δημοφιλέστερες περιοχές αλίευσης της

Μεσογείου, όπως είναι το Βόρειο Αιγαίο, η Αδριατική θάλασσα και η Τυνησία. Επιπλέον μελετήθηκαν σημαντικοί παράγοντες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στα νωπά αλιεύματα, όπως είναι οι διαφορετικοί ιστοί των αλιευμάτων, η εποχή της δειγματοληψίας, το μέγεθος και το φύλο των αλιευμάτων, καθώς και η γεωγραφική ζώνη αλίευσης.

Το σημαντικότερο τμήμα της πειραματικής μελέτης αποτέλεσε ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων σε δύο σημαντικές μεθόδους επεξεργασίας των αλιευμάτων, στη α) θερμική επεξεργασία και β) βιομηχανική κονσερβοποίηση. Οι μελέτες πάνω στη μεταβολή των βαρέων μετάλλων κατά την επεξεργασία στα μικρά πελαγικά ψάρια και κεφαλόποδα είναι πολύ περιορισμένες και επομένως υπάρχει έλλειψη ερευνητικών δεδομένων που να αφορούν στη συμπεριφορά των βαρέων μετάλλων κατά τη θερμική επεξεργασία και βιομηχανική κονσερβοποίηση των αλιευμάτων. Τονίζεται ότι, αν και υπάρχουν θεσμοθετημένα όρια για τις συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στα νωπά αλιεύματα, τα όρια αυτά δε θα πρέπει να εφαρμόζονται στα μεταποιημένα προϊόντα. Στα προϊόντα αυτά χρησιμοποιούνται συντελεστές μετατροπής οι οποίοι μπορούν να προκύψουν από ερευνητικά δεδομένα βάσει της συμπεριφοράς των μετάλλων κατά την επεξεργασία. Στόχος της διατριβής ήταν να καλύψει αυτό το κενό σχετικά με τη μεταβολή της συγκέντρωσης του καδμίου και του μολύβδου στη σαρδέλα, το γαύρο και το καλαμάρι που έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία και κονσερβοποίηση.

Ένα ακόμα στόχο της διατριβής ήταν η μελέτη του μηχανισμού συσσώρευσης και ανακατανομής των βαρέων μετάλλων στους ιστούς κατά την μεταποίηση των τροφίμων, ώστε να εξακριβωθεί αν οι συνθήκες κατά τη μεταποίηση (θέρμανση, υψηλή πίεση κ.α.) επηρεάζουν τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στα τελικά προϊόντα. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν οι μεταβολές του βάρους και της περιεκτικότητας σε υγρασία, ως σημαντικές παράμετροι της επεξεργασίας των αλιευμάτων και η πιθανότητα συσχέτισης αυτών των παραγόντων με τις μεταβολές στη συγκέντρωση των δύο μετάλλων.

Ιδιαίτερος στόχος ήταν και η μελέτη της συμπεριφοράς των μεταλλοθειονινών, γνωστών πρωτεϊνών – φορέων των διαφόρων μετάλλων, καθώς και η ερμηνεία του μηχανισμού αναδιανομής των βαρέων μετάλλων στους ιστούς κατά την επεξεργασία, διαμέσου των μεταβολών στις μεταλλοθειονίνες.

Η διατριβή είχε επίσης ως στόχο να δώσει στοιχεία σχετικά με την έκθεση των Ελλήνων καταναλωτών σε βαρέα μέταλλα από δημοφιλή αλιευτικά προϊόντα, με εκτίμηση της επιτρεπόμενης εβδομαδιαίας κατανάλωσης κάθε είδους αλιεύματος. Αξιολογήθηκαν τόσο τα νωπά, όσο και τα μεταποιημένα αλιεύματα, ώστε να εξακριβωθεί ο βαθμός έκθεσης των Ελλήνων και Ευρωπαίων καταναλωτών σε βασικά προϊόντα υψηλής θρεπτικής αξίας, όπως είναι τα προϊόντα από ψάρια και θαλασσινά.

II. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



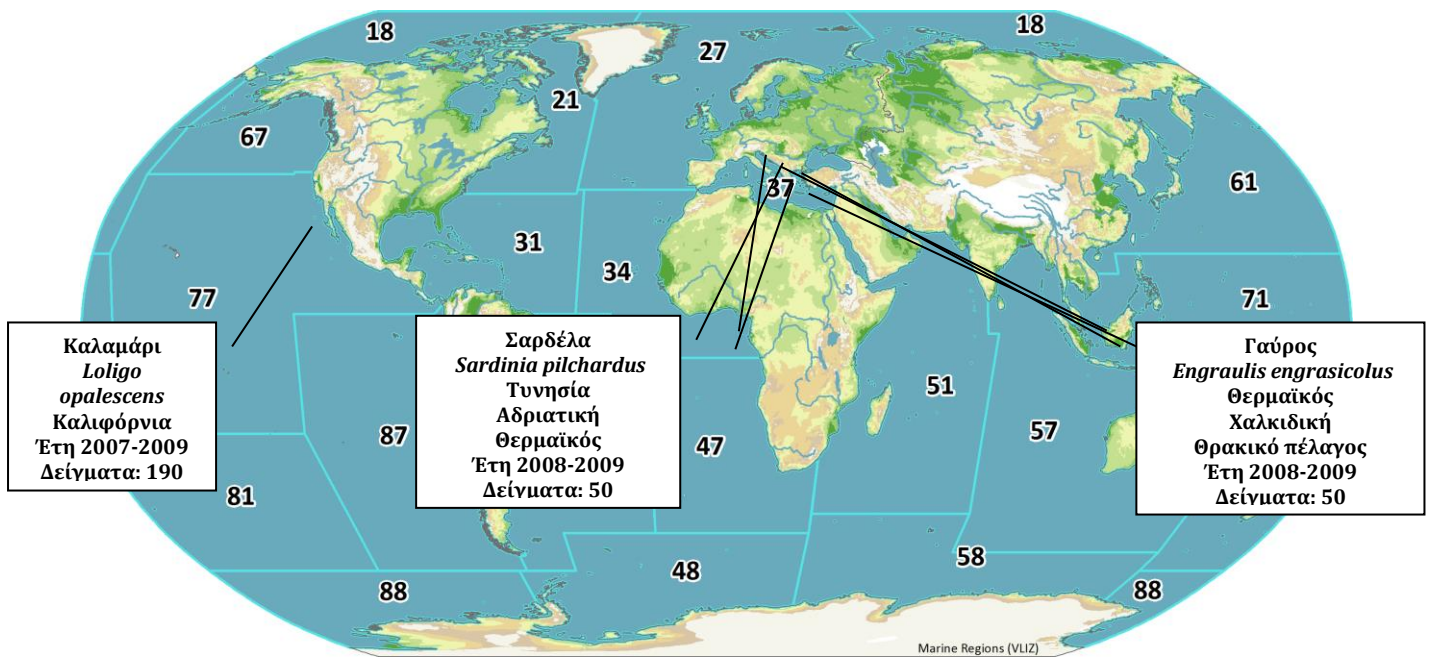
Κεφάλαιο 12. Υλικά

12.1. Δείγματα

Για τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας, επιλέχθηκαν τρία είδη αλιευμάτων. Τα κριτήρια επιλογής τους ήταν:

- η σπουδαιότητά τους στην ανθρώπινη διατροφή
- η συχνότητα κατανάλωσης και η προτίμησή τους από τους καταναλωτές
- η εμπορική και αλιευτική τους αξία στην Ελλάδα, τη Μεσόγειο αλλά και διεθνώς
- η δυνατότητα και η συχνότητα χρήσης τους σε βιομηχανικές διεργασίες μεταποίησης και κυρίως στην κονσερβοποίηση
- η αυξημένη πιθανότητα, νομοθετικά όρια και βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με τη συσσώρευση βαρέων μετάλλων
- η δυνατότητα να πραγματοποιηθεί ορθή και ολοκληρωμένη δειγματοληψία που να καλύψει τους ερευνητικούς σκοπούς της διατριβής
- η δυνατότητα δειγματοληψίας του ίδιου είδους σε διαφορετικές αλιευτικές ζώνες

Με βάση τα παραπάνω κριτήρια και έχοντας ως στόχο την εκπλήρωση των ερευνητικών στόχων της διατριβής πραγματοποιήθηκε τα έτη 2007-2009 η δειγματοληψία αλιευμάτων με ερευνητικό και εμπορικό ενδιαφέρον. Στο σχήμα 12.1. δίνονται συγκεντρωτικά τα δεδομένα της δειγματοληψίας.



Σχήμα 12.1. Είδη αλιευμάτων και περιοχές δειγματοληψίας (earth photo© www.marineregions.org)

12.1.1. Σαρδέλα του είδους *Sardinia pilchardus*

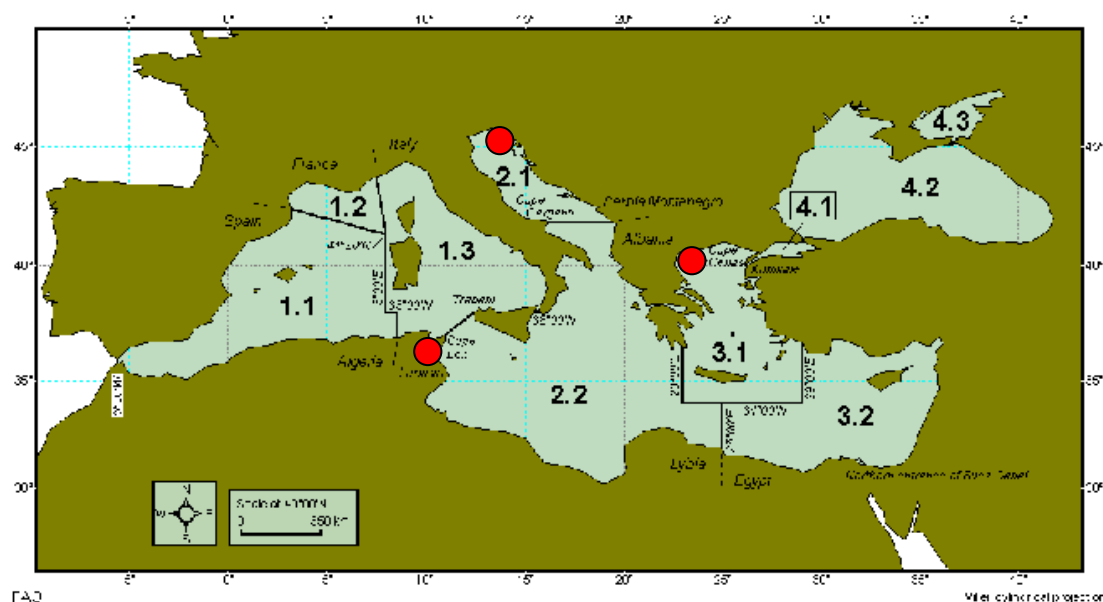
Η σαρδέλα του είδους *Sardinia pilchardus* ή ευρωπαϊκή σαρδέλα, αποτελεί ένα μικρό πελαγικό ψάρι της οικογένειας *Clupeidae*, με μεγάλη συμβολή στη διατροφή και το αλιευτικό εμπόριο στην Ελλάδα και τη Μεσόγειο. Αλιεύεται κυρίως στις ακτές του βορειοανατολικού Ατλαντικού και στη Βόρεια Θάλασσα, στις βορειοδυτικές ακτές της Αφρικής, σχεδόν σε όλες τις αλιευτικές ζώνες της Μεσογείου, στη θάλασσα του Μαρμαρά της Τουρκίας και σε ορισμένες ζώνες νότια της Μαύρης Θάλασσας. Από το 1950 μέχρι και σήμερα, ο αλιευτικός όγκος αυξάνεται δυναμικά σε διεθνές επίπεδο, αγγίζοντας τους 1.525.184 τόνους το 1990. Η αλιευτική δραστηριότητα της σαρδέλας είναι πλέον ελεγχόμενη, διότι αποτελεί είδος που επηρεάζεται αρνητικά από την υπεραλίευση (FAO, 2013).

Η σαρδέλα είναι ένα ψάρι ιδιαίτερης θρεπτικής αξίας, καθώς είναι πλούσιο σε ωμέγα-3 λιπαρά οξέα, βιταμίνες D και B12 και πρωτεΐνες. Η ανταγωνιστική εμπορική του τιμή το κάνει ιδιαίτερα δημοφιλές στη διατροφή των καταναλωτών, ενώ συναντάται και σε πολλές εμπορικές μορφές, όπως είναι το νωπό, κατεψυγμένο, κονσερβοποιημένο, αποξηραμένο, παστό και καπνιστό. Οι κονσερβοποιημένες σαρδέλες αποτελούν μια πολύ δημοφιλή εμπορική μορφή

του ψαριού, καθώς είναι οικονομικές, μπορούν να καταναλωθούν καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου και σε απομακρυσμένες από τη θάλασσα περιοχές, ενώ παρέχουν ευκολία στη χρήση επειδή είναι έτοιμες προς κατανάλωση (Tarley et al., 2001).

Για την πειραματική διεργασία συλλέχθηκαν σαρδέλες από τρία σημαντικά κέντρα αλιείας στη δυτική, κεντρική και ανατολική Μεσόγειο (σχήμα 12.2):

- Δυτική Μεσόγειος (αλιευτική ζώνη 37.1 κατά FAO), Κόλπος της Τυνησίας (υποδιαίρεση 37.1.3), 10 δείγματα
- Κεντρική Μεσόγειος (αλιευτική ζώνη 37.2 κατά FAO), Αδριατική Θάλασσα (υποδιαίρεση 37.2.1), 20 δείγματα
- Ανατολική Μεσόγειος (αλιευτική ζώνη 37.2 κατά FAO), Βόρειο Αιγαίο (υποδιαίρεση 37.3.1), 20 δείγματα.



Σχήμα 12.2. Οι επιλεγμένες περιοχές δειγματοληψίας των δειγμάτων σαρδέλας στη δυτική, κεντρική και ανατολική Μεσόγειο. Η εικόνα προέρχεται από τον FAO (<http://www.fao.org/fishery/area/Area37/en>).

Συνολικά τα έτη 2008-2009 συλλέχθηκαν 50 δείγματα σαρδέλας. Σε κάθε δειγματοληψία καταγράφηκε η ημερομηνία, η περιοχή δειγματοληψίας και το μέγεθος των ψαριών. Τα δείγματα καταψύχθηκαν αμέσως μετά την αλίευσή τους και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο υπό κατάψυξη. Όλα τα δείγματα ζυγίστηκαν κατά την παραλαβή, έτσι ώστε να είναι περίπου 600 g, ενώ επιπλέον ελέγχθηκε η θερμοκρασία και η κατάσταση παραλαβής. Το κάθε σύνθετο δείγμα

αποτελούνταν από 30-37 τεμάχια, ανάλογα με το μέγεθος των αλιευμάτων. Ο μέγιστος χρόνος μεταξύ της αλίευσης και της ανάλυσης των δειγμάτων ήταν 4 εβδομάδες. Στο παράρτημα I δίνεται αναλυτικός πίνακας με τα δεδομένα της δειγματοληψίας (πίνακας 1).

12.1.2. Γαύρος του είδους *Engraulis encrasicolus*

Ο γαύρος του είδους *Engraulis encrasicolus* ή ευρωπαϊκός γαύρος είναι το πιο δημοφιλές αλιευτικό είδος της οικογένειας *Engraulidae*. Στην Ελλάδα αλιεύεται από την αρχαιότητα και αποτελεί σημαντικό εμπορικό είδος. Αλιεύεται σε όλες τις αλιευτικές ζώνες της Ευρώπης, αλλά κυριότερα στον ανατολικό, βόρειο και κεντρικό Ατλαντικό, σε ολόκληρη τη Μεσόγειο, τη Μαύρη θάλασσα και κατά μήκος των ακτών της Δυτικής Αφρικής. Ο παγκόσμιος όγκος αλίευσης άγγιξε τους 650.000 τόνους το 2007 και παρουσιάζει αυξομειώσεις, καθώς συγκαταλέγεται στα θαλάσσια είδη που επηρεάζονται από την υπεραλίευση (Ε.ΠΑ.Λ, 2007).

Η διατροφική αξία του γαύρου είναι υψηλή και της ίδιας ποιότητας με της σαρδέλας. Ο γαύρος παρέχει κυρίως υψηλή ποιότητα πρωτεϊνών, ιχνοστοιχεία και σημαντική συγκέντρωση σε ωμέγα-3 λιπαρά οξέα. Μεγάλο μέρος του αλιευτικού όγκου του γαύρου μεταποιείται σε διάφορα προϊόντα, όπως είναι τα αλίπαστα, οι κονσέρβες και τα μαριναρισμένα προϊόντα. Ιδιαίτερα δημοφιλή είναι τα φιλέτα αντζούγιας, κονσερβοποιημένα ή διατηρημένα σε άλμη ή έλαιο (Sanfilippo et. al., 2011).

Για τις ανάγκες διεξαγωγής του πειράματος τα έτη 2008-2009 συλλέχθηκαν συνολικά 50 σύνθετα δείγματα γαύρου αποκλειστικά από ελληνικές αλιευτικές περιοχές και ειδικότερα από τον Θερμαϊκό, το Θρακικό πέλαγος και τη Χαλκιδική. Τα δείγματα που συλλέχθηκαν προέρχονται από τις περιοχές αλίευσης:

- Θερμαϊκός κόλπος (συμπεριλαμβάνεται η Μηχανιώνα), 30 δείγματα
- Θρακικό πέλαγος, 10 δείγματα
- Χαλκιδική, 10 δείγματα

Σε κάθε δειγματοληψία καταγράφηκε η ημερομηνία αλίευσης, η περιοχή δειγματοληψίας και το μέγεθος των ψαριών. Τα δείγματα καταψύχθηκαν αμέσως μετά την αλίευσή τους με πάγο και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο υπό

κατάψυξη. Όλα τα δείγματα ζυγίστηκαν κατά την παραλαβή, έτσι ώστε να είναι περίπου 600 g, ενώ ελέγχθηκε και η θερμοκρασία και η κατάσταση παραλαβής. Το κάθε σύνθετο δείγμα αποτελούνταν από 38-42 τεμάχια, ανάλογα με το μέγεθος των αλιευμάτων. Ο μέγιστος χρόνος μεταξύ της αλίευσης και της ανάλυσης των δειγμάτων ήταν 4 εβδομάδες. Στο παράρτημα Ι δίνεται αναλυτικός πίνακας με τα δεδομένα της δειγματοληψίας (πίνακας 2).

12.1.3. Καλαμάρι του είδους *Loligo opalescens*

Ένα από τα πιο σημαντικά εμπορεύσιμα είδη κεφαλόποδων είναι το καλαμάρι του είδους *Loligo opalescens*, το οποίο αποτελεί ένα από τα 30-40 είδη της οικογένειας *Loliginidae*. Το καλαμάρι *Loligo opalescens* έχει μικρό μέγεθος (μέσο μήκος 15cm) που επιτρέπει τον εύκολο χειρισμό του σε διάφορες διεργασίες μεταποίησης και το καθιστά ιδιαίτερα δημοφιλές για χρήση σε βιομηχανική κονσερβοποίηση και παραγωγή πολλών διαφορετικών προϊόντων.

Η κύρια αλιευτική περιοχή του καλαμαριού βρίσκεται στην Καλιφόρνια, στο Μεξικό και στη Νοτιοανατολική Αλάσκα. Η περιοχή της Καλιφόρνιας παράγει το μεγαλύτερο όγκο των αλιευμάτων, με αριθμούς που ξεπερνούν τους 114.000 τόνους ετησίως και εμπορική αξία των αλιευμάτων της τάξης των 40-50 εκατομμυρίων δολαρίων. Το καλαμάρι *Loligo opalescens* αποτελεί ένα σημαντικό διεθνές εμπορικό είδος με την πλειοψηφία των προϊόντων να προορίζονται για τις αγορές της Κίνας, της Ιαπωνίας και της Ευρώπης.

Η διατροφική αξία του καλαμαριού έγκειται στα διατροφικά χαρακτηριστικά των κεφαλόποδων, τα οποία περιέχουν πολύ χαμηλή συγκέντρωση σε λιπαρά κατά μέσο όρο 1 - 2%, με χαμηλά επίπεδα κορεσμένων λιπαρών και αυξημένες ποσότητες ακόρεστων λιπαρών οξέων. Επιπλέον, προσφέρουν ευεργετικά στοιχεία για τον ανθρώπινο οργανισμό καθώς είναι καλή φυσική πηγή πρωτεϊνών, νιασίνης, ψευδαργύρου, ριβοφλαβίνης, βιταμίνης B12, σιδήρου, φωσφόρου, χαλκού και σεληνίου (De Moreno et al., 1998).

Η δειγματοληψία για την πειραματική διεργασία στο καλαμάρι *Loligo opalescens* πραγματοποιήθηκε σε δύο στάδια: στο πρώτο στάδιο συλλέχθηκαν συνολικά 140 δείγματα. Τα καλαμάρια αλιεύτηκαν από βάθος 50-70 μέτρων, στην περιοχή του Ειρηνικού, στην παράκτια ζώνη αλίευσης του κόλπου της Καλιφόρνια (FAO ζώνη 77) τα έτη 2007 και 2008. Αμέσως μετά την αλίευσή

τους, τα καλαμάρια συσκευάστηκαν σε μορφή block των 10 κιλών και πάγωσαν αμέσως επί του σκάφους. Στη συνέχεια, μεταφέρθηκαν υπό κατάψυξη (-18°C) και διατηρήθηκαν σε αυτή τη θερμοκρασία μέχρι την ανάλυσή τους. Η διάρκεια μεταξύ της συλλογής και της ανάλυσης ήταν το μέγιστο 7 εβδομάδες. Κατά την παραλαβή και πριν από την ανάλυση καταγράφηκαν η ημερομηνία αλίευσης, τα τεμάχια/κιλό δείγματος, το μέσο μέγεθος και το φύλο (ως το επικρατέστερο σε αναλογία είδος στο δείγμα). Αναλυτικά, τα αποτελέσματα της δειγματοληψίας δίνονται στον πίνακα 3 (Παράρτημα Ι).

12.2. Αντιδραστήρια

Παρακάτω δίνεται ο πλήρης κατάλογος των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας:

- Νιτρικό οξύ 65% Suprapur® (No 441-2, Merck KGaA, Darmstadt, Germany)
- Υπεροξειδίο του υδρογόνου 30% w/w (No 876323, Panreac Química S.A.U., Barcelona, Spain)
- Νιτρικό οξύ 65% w/v for analysis EMSURE® ISO (No 1004562500, Merck KGaA, Darmstadt, Germany)
- Πιστοποιημένο υλικό αναφοράς μύδι ERM-287 (EU Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements, Geel, 160 Belgium).
- Νιτρικό παλλάδιο τροποποιητής υποστρώματος for AAS, Pd(NO₃)₂·2H₂O σε 15% HNO₃ (No 76040, Sigma-Aldrich Co., St. Louis-US).
- Πρότυπο διάλυμα καδμίου Cd=1,000±0,002 g/l AA [Cd(NO₃)₂·4H₂O σε HNO₃ 0,5N] for spectrophotometry (No 786915, Panreac Química S.A.U., Barcelona, Spain)
- Πρότυπο διάλυμα μολύβδου Pb=1,000±0,002 g/l AA [Pb(NO₃)₂ σε HNO₃ 0,5N] for spectrophotometry (No 313189, Panreac Química S.A.U., Barcelona, Spain)
- Πρότυπο διάλυμα υδραργύρου Hg=1,000±0,002 g/l AA [Hg(NO₃)₂ σε HNO₃ 1N] for spectrophotometry (313186, Panreac Química S.A.U., Barcelona, Spain)
- Υδροχλωρίδιο του τρις(υδροξυμεθυλο)-αμινομεθανίου (No 1082191000, Merck KGaA, Darmstadt, Germany)

- Αλβουμίνη, βόιου ορού, κλάσμα V, χαμηλή σε βαρέα μέταλλα (No 12659, Merck KGaA, Darmstadt, Germany)
- Τριχλωροξικό οξύ (No 641730-500GM, Merck KGaA, Darmstadt, Germany)
- Μεταλλοθειονίνη-1 (No ALX-202-072-M001, Enzo Life Sciences Inc. NY, USA)
- Νερό, Ultrapur (No 101262 Merck KGaA, Darmstadt, Germany)

12.3. Οργανολογία

Παρακάτω δίνεται ο πλήρης κατάλογος των χρησιμοποιούμενων οργάνων και συσκευών:

α. Ομογενοποιητής Ultra Turrax Yellowline DI 25 basic, IKA® Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany).

β. Σύστημα ατομικής απορρόφησης με διόρθωση Zeeman, μοντέλο SpectrAA 240Z Zeeman, Varian Inc., Palo Alto, USA), αυτόματος δειγματολήπτης (PSD12, Varian Inc., Palo Alto, USA) και γεννήτρια υδριδίων Cold Vapor Generator system (VGA-77 Vapor Generation Accessory for AA spectrometers, Varian Inc., Palo Alto, USA).

γ. Συσκευή όξινης πέψης κλειστών δοχείων με μικροκύματα (Qwave-2000 microwave digestion system, Questron Co., Canada).

δ. Εργαστηριακός αναλυτικός ζυγός ακριβείας Kern ABT 100-5M (KERN & SOHN GmbH, Balingen, Germany)

ε. Εργαστηριακός αναλυτικός ζυγός ακριβείας Kern 440-33N (KERN & SOHN GmbH, Balingen, Germany)

στ. Φυγόκεντρος (3K12, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

ζ. Λυοφιλιωτής (Freezone 4.5, Labconco, Kansas City, Missouri, US)

η. Κλίβανος Memmert INB-400 (Mettler GmbH + Co. KG, Schwabach, Germany)

θ. Αυτόματες πιπέτες μεταβλητού όγκου 10-100 µL και 1-5 mL (Superco GmbH, Augsburg, Germany).

ι. Θερμοαντιδραστήρας δοκιμαστικών σωλήνων (HI 839800, Hanna instruments, Woonsocket, Rhode Island, USA)

12.4. Γυαλικά και άλλα αναλώσιμα

Κατά τη διάρκεια της πειραματικής διεργασίας χρησιμοποιήθηκαν διάφορα γυάλινα όργανα και σκεύη γενικής εργαστηριακής χρήσης, όπως σιφώνια, σωλήνες, κωνικές φιάλες, ποτήρια ζέσεως, ογκομετρικοί κύλινδροι. Όλα τα γυαλικά καθαρίστηκαν με διάλυμα νιτρικού οξέος 6,5% (v/v) πριν τη χρήση τους. Για τη φύλαξη των διαλυμάτων πέψης πριν την εξέτασή τους με ατομική απορρόφηση χρησιμοποιήθηκαν δοχεία πολυπροπυλενίου με πώμα, ενώ τα δείγματα διατηρήθηκαν σε σακούλες πολυαιθυλενίου, κατάλληλες για χρήση σε τρόφιμα.



Κεφάλαιο 13. Μέθοδοι

13.1. Προκατεργασία των δειγμάτων

Όλα τα δείγματα πριν την ανάλυσή τους αποψύχθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια ακολουθήθηκε η παρακάτω μεθοδολογία προεργασίας ανάλογα με το κάθε είδος του αλιεύματος.

- Σαρδέλα: το κάθε σύνθετο δείγμα σαρδέλας ζύγιζε 600 g και περιείχε 20-37 τεμάχια. Μετά την απόψυξη, το δείγμα χωρίστηκε σε τρεις παρτίδες των 200 g η καθεμία. Η πρώτη παρτίδα χρησιμοποιήθηκε για τον ποσοτικό προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων στο νωπό ψάρι. Η δεύτερη παρτίδα χρησιμοποιήθηκε για τον ποσοτικό προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων μετά από τη διεργασία της θερμικής επεξεργασίας-ψήσιμο, ενώ η τρίτη παρτίδα κονσερβοποιήθηκε σε δύο κονσέρβες των 100 g, σύμφωνα με τη διαδικασία βιομηχανικής κονσερβοποίησης. Ο προσδιορισμός των βαρέων μετάλλων έγινε στη σάρκα και στο κόκαλο των ψαριών. Μετά την κάθε επεξεργασία, τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν σε mixer για τουλάχιστον δύο λεπτά.

- Γαύρος: το κάθε σύνθετο δείγμα γαύρου ζύγιζε 600 g και περιείχε 38-42 τεμάχια. Μετά την απόψυξη, το δείγμα χωρίστηκε σε τρεις παρτίδες των 200 g και ακολουθήθηκε ακριβώς η ίδια διαδικασία με τα δείγματα σαρδέλας.

- Καλαμάρι: στην πρώτη πειραματική εργασία χρησιμοποιήθηκαν 140 σύνθετα δείγματα-block καλαμαριού, τα οποία ζύγιζαν δέκα κιλά το καθένα. 70 από αυτά τα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό καδμίου στη νωπή σάρκα του καλαμαριού, ενώ τα υπόλοιπα 70 δείγματα χρησιμοποιήθηκαν

για τον προσδιορισμό του καδμίου σε ολόκληρο το νωπό καλαμάρι. Για την κάθε ανάλυση από τα σύνθετα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν 10 καλαμάρια. Για τον προσδιορισμό καδμίου σε κονσερβοποιημένα προϊόντα, από τα 140 δείγματα – block λήφθηκαν 200 υποδείγματα των 10 καλαμαριών, τα οποία κονσερβοποιήθηκαν με βάση το πρωτόκολλο της βιομηχανικής κονσερβοποίησης. Όλα τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν για 2 λεπτά πριν τη διεξαγωγή της όξινης πέψης.

Στη δεύτερη πειραματική εργασία χρησιμοποιήθηκαν 50 σύνθετα δείγματα-block καλαμαριού, τα οποία ζύγιζαν δέκα κιλά το καθένα. Από το κάθε δείγμα παραλήφθηκαν 60 τεμάχια, τα οποία χωρίστηκαν σε τρία υποδείγματα των 20 καλαμαριών. Το πρώτο υποδείγμα χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων στο νωπό καλαμάρι, το δεύτερο υποδείγμα για τον προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων στο ψημένο καλαμάρι, ενώ το τρίτο υποδείγμα κονσερβοποιήθηκε με βάση τη μεθοδολογία βιομηχανικής κονσερβοποίησης. Μετά την κάθε επεξεργασία, τα δείγματα χωρίστηκαν σε σάρκα, ολόκληρο, εντόσθια και σηπία (κόκαλο καλαμαριού) και ομογενοποιήθηκαν για δύο λεπτά σε mixer προς περαιτέρω ανάλυση.

13.2. Βιομηχανική επεξεργασία των δειγμάτων

Κονσερβοποίηση ονομάζεται η τεχνολογική επεξεργασία των τροφίμων που συσκευάζονται σε ερμητικά κλειστούς περιέκτες και στη συνέχεια θερμαίνονται σε θερμοκρασίες $>100^{\circ}\text{C}$, έτσι ώστε να θανατωθούν οι βλαστικές μορφές και τα σπόρια των μικροοργανισμών τα οποία θα ήταν ικανά να καταστήσουν το προϊόν μη ασφαλές και μη κανονικό για κατανάλωση, εφόσον συντηρηθεί σε συνθήκες περιβάλλοντος. Η συνήθης τιμή αναφοράς για την ελάχιστη βιομηχανική αποστείρωση ορίζεται με τον μικροοργανισμό αναφοράς *Clostridium botulinum* και την απαιτούμενη μείωση 12 δεκαδικών λογαρίθμων κατά την αποστείρωση. Στην πράξη χρησιμοποιούνται μεγαλύτεροι χρόνοι αποστείρωσης, λόγω πιθανών αλλοιογόνων μικροοργανισμών που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη μικροβιολογική κατάσταση και ποιότητα του προϊόντος, με συνήθη τιμή αποστείρωσης τα 10 λεπτά, στους 121°C . Τα τελικά προϊόντα, έχουν τιμή $\text{pH} >4.5$ και $a_w >0,85$, και είναι ικανά να συντηρηθούν σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος για μεγάλο χρονικό διάστημα (Bratt, 2010).

Η βιομηχανική επεξεργασία των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας το βιομηχανικό πρωτόκολλο κονσερβοποίησης της Κονσερβοποιίας Βορείου Αιγαίου Α.Β.Ε.Ε. για το κάθε είδος προϊόντος.

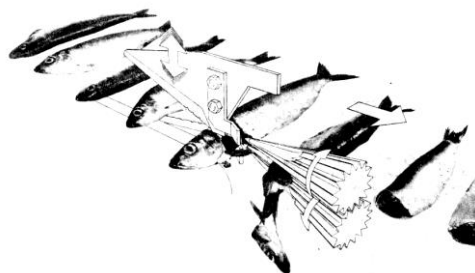
• Προετοιμασία της πρώτης ύλης



(©KONVA, 2009)

καθαρισμού και διαλογής αλλά δεν απομακρύνθηκαν τα εντόσθια, καθώς είναι βρώσιμα και αποτελούν μέρος του τελικού προϊόντος.

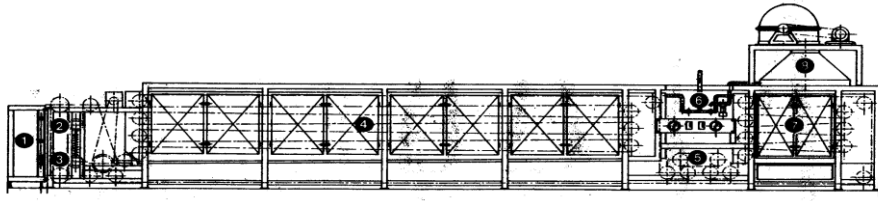
Στα ψάρια, το πρώτο στάδιο περιλάμβανε τον καθαρισμό και διαχωρισμό των μη βρώσιμων μερών από το υπόλοιπο ψάρι (εντόσθια), του κεφαλιού και της ουράς. Στη συνέχεια τα ψάρια συσκευάστηκαν στους ειδικούς περιέκτες. Στη βιομηχανική γραμμή επεξεργασίας των ψαριών, η διαδικασία αφαίρεσης του κεφαλιού, των εντοσθίων και της ουράς γίνεται αυτόματα και με μηχανικό τρόπο (Σχήμα 12.1). Τα καλαμάρια πέρασαν από τα στάδια της απόψυξης,



Σχήμα 12.1. Ευσπλαχνισμός και αποκεφαλισμός (Warne, 1988).

•Θερμική επεξεργασία –προμαγείρεμα

Αυτό το στάδιο περιλαμβάνει το ψήσιμο των ψαριών και των κεφαλόποδων, με στόχο να αποκτήσουν τα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, ενώ απαραίτητη είναι και η μείωση του περιεχόμενου νερού. Βιομηχανικά πραγματοποιείται σε φούρνους συνεχούς λειτουργίας, σε συνθήκες χρόνου και θερμοκρασίες που ποικίλουν ανάλογα με το είδος του προϊόντος (σχήμα 13.2). Στη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία, στα ψάρια χρησιμοποιήθηκε πρόγραμμα ψησίματος διάρκειας 40 λεπτών σε μέγιστη θερμοκρασία 150°C, ενώ στα καλαμάρια χρησιμοποιήθηκε πρόγραμμα 10 λεπτών, σε χαμηλότερη θερμοκρασία (γύρω στους 90-120°C).



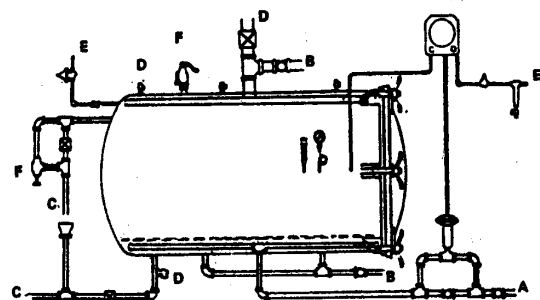
Σχήμα 12.2. Φούρνος ψήσιματος συνεχούς λειτουργίας για σαρδέλα και γαύρο (Warne, 1988.)

• **Πλήρωση των κουτιών, απαέρωση και ερμητικό κλείσιμο**

Μετά το ψήσιμο, τα δοχεία ζυγίστηκαν και γεμίστηκαν, απαερώθηκαν και έκλεισαν ερμητικά με αυτόματο κλειστικό μηχάνημα κονσερβών. Στην παρούσα πειραματική διεργασία όλες οι παραγόμενες κονσέρβες σαρδέλας και γαύρου πληρώθηκαν αποκλειστικά με σογιέλαιο, το οποίο είχε προεξεταστεί για απουσία βαρέων μετάλλων που θα μπορούσαν να επιμολύνουν το δείγμα. Επίσης, όλα τα υλικά συσκευασίας ήταν από αλουμίνιο επικαλυμμένο με ειδικό επίχρισμα (λάκκα), έτσι ώστε να αποκλείεται τυχόν επιμόλυνση του δείγματος με κατάλοιπα βαρέων μετάλλων που θα μπορούσαν να μεταναστεύσουν από το υλικό κατά τη θερμική επεξεργασία. Η απουσία όλων των πιθανών επιμολύνσεων επαληθευόταν σε τακτικά χρονικά διαστήματα με τυφλά διαλύματα (χωρίς το ψάρι). Στο καλαμάρι η πλήρωση αντί με σογιέλαιο έγινε με άλμη 2% (w/w), η οποία επίσης εξετάστηκε πριν και μετά την αποστείρωση για να διαπιστωθεί μια πιθανή παρουσία βαρέων μετάλλων.

• **Εμπορική Αποστείρωση**

Όλα τα δείγματα αποστειρώθηκαν σε οριζόντιο αυτόκλειστο βιομηχανικού τύπου (σχήμα 12.3.), έτσι ώστε ο χρόνος θερμικού θανάτου F_0 να είναι κατ'ελάχιστο $F_0 = 12$ (121°C) min.



Σχήμα 12.3. Οριζόντιο βιομηχανικό αυτόκλειστο (Warne, 1988).

- **Ψύξη, αποθήκευση και άνοιγμα**

Στη συνέχεια, οι κονσέρβες ψύχθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου και αποθηκεύτηκαν σε δροσερό περιβάλλον, μέχρι την ανάλυσή τους. Πριν από οποιαδήποτε κατεργασία, οι κονσέρβες ανοίχτηκαν και το υγρό πλήρωσης στραγγίσθηκε σχολαστικά. Πριν και μετά το τέλος της κάθε επεξεργασίας καταγράφηκε το βάρος των δειγμάτων.

13.3. Μέθοδος όξινης υγρής πέψης (liquid acid digestion)

Η μέθοδος όξινης πέψης που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διεργασία βασίστηκε στην επίσημη μέθοδο της AOAC 999.10 για τον ποσοτικό προσδιορισμό μολύβδου, καδμίου, ψευδαργύρου, χαλκού και σιδήρου σε τρόφιμα, με σύστημα ατομικής απορρόφησης μετά από πέψη (AOAC, 2002). Πιο αναλυτικά, τα στάδια της μεθόδου ήταν ως εξής:

- ακριβής ζύγιση του ομογενοποιημένου δείγματος σε 0,8 g σε δοχείο πέψης Teflon 100mL
- προσθήκη 8 mL πυκνού νιτρικού οξέος (65%w/v HNO₃)
- προσθήκη 2 mL διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου (30%w/v H₂O₂)
- ερμητικό κλείσιμο
- τοποθέτηση στη συσκευή πέψης
- όξινη πέψη σύμφωνα με το επιλεγμένο πρόγραμμα της συσκευής (No12)
- ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου
- άνοιγμα και αραίωση στα 50 mL με απιονισμένο νερό. Η περιεκτικότητα του τελικού διαλύματος ήταν μέχρι 10 %, ώστε να περιοριστεί η φθορά των μεταλλικών στοιχείων στα όργανα ανάλυσης.

Στον πίνακα 13.1 δίνονται συνοπτικά οι παράμετροι της όξινης πέψης:

Πίνακας 13.1. Οι επιλεγμένες παράμετροι της μεθόδου όξινης πέψης.

	Παράμετροι	Τιμές
Όργανα-συσκευές	Υλικό δοχείων πέψης Όγκος δοχείου Μέγιστη αντοχή στην πίεση Ψύξη	Teflon 100 mL 80 bar Ρεύμα αέρα
Όξινη πέψη	Βάρος δείγματος Διάλυμα πέψης Χρόνος πέψης Μέγιστη θερμοκρασία πέψης Χρόνος ψύξης Διάρκεια προγράμματος	0,8 g 8 mL νιτρικό οξύ 65% (w/v) 2 mL υπεροξείδιο του υδρογόνου 30% (w/w) 12 min 200°C 8 min 20 min

13.4. Υπολογισμός περιεκτικότητας σε υγρασία (ξηρό υπόλειμμα)

Η περιεχόμενη υγρασία των δειγμάτων υπολογίστηκε σταθμικά με ξήρανση των δειγμάτων για τουλάχιστον 6 ώρες στους 100-103°C, μέχρι σταθερού βάρους και τη ζύγιση πριν και μετά την ξήρανση, όπως περιγράφεται στη μέθοδο AOAC 952.08, για τον προσδιορισμό υγρασίας σε θαλασσινά (AOAC, 1990).

13.5. Μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού καδμίου και μολύβδου με σύστημα φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης με διόρθωση Zeeman

Η συγκέντρωση του καδμίου και του μολύβδου προσδιορίστηκε ποσοτικά από σύστημα φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης με διόρθωση Zeeman (GTA-AAS) εξοπλισμένο με αυτόματο δειγματολήπτη. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν. Μετά την πέψη, τα δείγματα αραιώθηκαν σε τελικό όγκο των 50 mL με απιονισμένο νερό, το οποίο είχε προεξεταστεί για την πιθανή παρουσία καταλοίπων βαρέων μετάλλων.

Μετά από σειρά προκαταρκτικών δοκιμών και βελτιστοποίησης της μεθόδου ανάλυσης, για το κάδμιο επελέγησαν οι ακόλουθες παράμετροι του συστήματος ατομικής απορρόφησης: μήκος κύματος 228,8 nm, πλάτος σχισμής 0,5 nm, ρεύμα λαμπτήρα 3mA, αέριο ροής 99,9% καθαρό αργό με ρυθμό ροής 0,3 L/min. Ο όγκος έγχυσης του δείγματος ήταν 16 μ L και του χημικού τροποποιητή 2 μ L. Το πρόγραμμα του συστήματος ατομικής απορρόφησης δίνεται στον πίνακα 13.2. Για τον υπολογισμό των άγνωστων συγκεντρώσεων καδμίου των δειγμάτων κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη με πρότυπο διάλυμα καδμίου, χρησιμοποιώντας τις συγκεντρώσεις 0,5, 1,0, 1,5 και 2 μ g/L Cd.

Αντίστοιχα για τον μόλυβδο, οι επιλεγμένες παράμετροι του συστήματος ήταν: μήκος κύματος 283,3 nm, πλάτος σχισμής 0,5 nm, ρεύμα λαμπτήρα 10 mA, το 99,9% αέριο ροής 99,9% καθαρό αργό με ρυθμό ροής 0,3 L/min. Ο όγκος έγχυσης του δείγματος ήταν 16 μ L. Το πρόγραμμα του συστήματος ατομικής απορρόφησης δίνεται στον πίνακα 13.3. Για τον υπολογισμό των άγνωστων συγκεντρώσεων μολύβδου των δειγμάτων, κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη με πρότυπο διάλυμα μολύβδου, χρησιμοποιώντας τις συγκεντρώσεις 5, 10, 15 και 20 μ g/L Pb.

Επιπλέον των δύο μετάλλων, πραγματοποιήθηκε και σειρά αναλύσεων για πιθανή παρουσία συγκέντρωσης υδραργύρου στα δείγματα εξεταζόμενα δείγματα, χρησιμοποιώντας συσκευή γεννήτριας υδριδίων. Η συγκέντρωση υδραργύρου προσδιορίστηκε ποσοτικά με το σύστημα γεννήτριας υδριδίων. Μετά από σειρά προκαταρκτικών δοκιμών και βελτιστοποίησης της μεθόδου, επελέγησαν οι ακόλουθες παράμετροι: 253,7 nm μήκος κύματος, 0,5 nm πλάτος σχισμής, ρεύμα λαμπτήρα 4mA, αέριο ροής 99,9% καθαρό αργό, νεφελοποιητής

ρυθμού πρόσληψης 5 mL/min. Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης υδραργύρου κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη χρησιμοποιώντας διαφορετικές αραιώσεις του προτύπου διαλύματος υδραργύρου 1000 mg/L Hg. Ο υδράργυρος βρέθηκε κάτω από το όριο ανίχνευσης για την πλειοψηφία των δειγμάτων (όριο ανίχνευσης: 0,2 μgkg^{-1}) και για αυτό τον λόγο διακόπηκε η πειραματική διεργασία στο συγκεκριμένο μέταλλο.

Πίνακας 13.2. Επιλεγμένο πρόγραμμα του συστήματος ατομικής απορρόφησης για το κάδμιο.

Αριθμός σταδίου	Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος (sec)	Ροή αερίου (L/min)	Λήψη σήματος	Περιγραφή
1	85	5	0.3		Ξήρανση
2	110	50	0.3		
3	140	20	0.3		
4	800	5	0.3		Τέφρα
5	800	1	0.3		
6	800	2	0.3	Ναι	Σταμάτημα αερίου
7	2100	0.9	0.3	Ναι	Ατομοποίηση
8	2100	2.0	0.3	Ναι	
9	2200	2.0	0.3	Ναι	Καθάρισμα

Πίνακας 13.3. Επιλεγμένο πρόγραμμα του συστήματος ατομικής απορρόφησης για τον μόλυβδο.

Αριθμός σταδίου	Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος (sec)	Ροή αερίου (L/min)	Λήψη σήματος	Περιγραφή
1	85	5	0.3		Ξήρανση
2	110	40	0.3		
3	160	40	0.3		
4	650	8	0.3		Τέφρα
5	650	1	0.3		
6	650	2	0.3	Ναι	Σταμάτημα αερίου
7	1800	0.8	0.3	Ναι	Ατομοποίηση
8	1800	2.0	0.3	Ναι	
9	1900	2.0	0.3	Ναι	Καθάρισμα

Για τη διασφάλιση της ποιότητας της αναλυτικής εργασίας χρησιμοποιήθηκε πιστοποιημένο πρότυπο υπόστρωμα, (@ERM -CE278, Joint Research Center, European Commission). Για την παρασκευή του προτύπου υποστρώματος, ζυγίστηκαν 0,12585 g Ref. Material BCR-287 Mussel tissue, ενώ

για την πέψη χρησιμοποιήθηκαν 4 mL HNO₃ 65% Suprapure και 1 mL H₂O₂ 30% w/w και η τελική αραίωση μετά την πέψη με απεσταγμένο νερό έγινε στα 25 mL. Οι θεωρητικές συγκεντρώσεις για τα 3 μέταλλα ήταν:

Cd: $1,752 \pm 0,036$ μg/kg

Pb: $10,068 \pm 0,2$ μg/kg

Hg: $0,986 \pm 0,046$ μg/kg

Το πρότυπο δείγμα εξετάζονταν πάντα στην αρχή της αναλυτικής εργασίας, έτσι ώστε να διασφαλιστεί ότι οι αναλυτικές συνθήκες είναι εντός των θεσμοθετημένων ορίων. Στην περίπτωση σημαντικής απόκλισης, η εξέταση σταματούσε ώστε να γίνει έλεγχος και διόρθωση όλων των πιθανών παραμέτρων που θα μπορούσαν να επιφέρουν αποκλίσεις στο αναλυτικό αποτέλεσμα.

13.6. Προσδιορισμός μεταλλοθειονινών

Οι μεταλλοθειονίνες (MT) προσδιορίστηκαν σε πέντε παρτίδες από δείγματα καλαμαριού της δεύτερης δειγματοληψίας. Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε στη σάρκα, ολόκληρο και εντόσθιο ιστό του καλαμαριού, καθώς και στο υγρό πλήρωσης των κονσερβών πριν και μετά την κονσερβοποίηση. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε αναπτύχθηκε ως μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού των μεταλλοθειονινών σε θαλασσινά από τους Pan and Zhang, (2006). Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν. Για την επικύρωση της μεθόδου και για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιήθηκε πρότυπο δείγμα μεταλλοθειονινών σε συγκεντρώσεις υδατικού διαλύματος 5,10,15,20, και 25 mg/l.

Αρχικά, τα ομογενοποιημένα δείγματα λυοφιλοποιήθηκαν. Στη συνέχεια, οι ιστοί τοποθετήθηκαν σε παγωμένο ρυθμιστικό διάλυμα 0,02 M Tris-HCl (pH 7.2 στους 20°C) σε μια αναλογία ιστού/ρυθμιστικού διαλύματος 1/6 (w/v) και ομογενοποιήθηκαν στις 10.000 rpm για 4 min υπό πάγο. Στη συνέχεια, το μίγμα φυγοκεντρήθηκε στα 10.000 g για 20 min στους 4°C. Κλάσματα του 1 mL από το υπερκείμενο υγρό θερμάνθηκαν στους 100°C για 10 min ώστε να μετουσιωθούν οι πρωτεΐνες που δεν ανήκουν στις MT. Στη συνέχεια, τα δείγματα ψύχθηκαν στους 4°C και φυγοκεντρήθηκαν στα 10.000 g για 20 min στους 4°C. Ακολούθως, 200 μL του υπερκειμένου υγρού αναμίχθηκαν με 200 μL διαλύματος HgCl₂ 50 mg/L σε 10% w/v τριχλωροξικό οξύ (TCA).

Στη συνέχεια, τα δείγματα επώαστηκαν για 10 λεπτά προκειμένου να ολοκληρωθεί η διαδικασία κορεσμού των MT με ιόντα υδραργύρου. Ακολούθως προστέθηκαν 400 μL υδατικού διαλύματος αλβουμίνης βόειου ορού (2% w/v), ώστε να απομακρυνθεί η περίσσεια υδραργύρου και το μίγμα μετά από παραμονή 10 min φυγοκεντρήθηκε σε 20.000 g για 20 λεπτά. Ποσότητα 500 μL του υπερκειμένου υγρού υποβλήθηκε σε όξινη πέψη με 8 mL νιτρικού οξέος 65% suprapure και 2 mL υπεροξείδιο του υδρογόνου 30%. Όλα τα δείγματα υποβλήθηκαν σε πέψη σε κλειστά δοχεία τύπου PFA-teflon. Μετά την πέψη, τα δείγματα αραιώθηκαν σε ένα τελικό όγκο 100 mL με υπερκάθαρο απιονισμένο νερό.

Η συγκέντρωση του υδραργύρου προσδιορίστηκε ποσοτικά με χρήση συσκευής γεννήτριας υδριδίων του συστήματος ατομικής απορρόφησης Cold Vapor Generator system (VGA-77 Vapor Generation Accessory for AA spectrometers, Varian Inc., Palo Alto, USA). Η συγκέντρωση των MT εκφράστηκε ως mg MT ανά g καλαμαριού χρησιμοποιώντας μια γραμμομοριακή αναλογία apo-MT: 1:07 Hg (Dieter et al., 1986) και λαμβάνοντας υπόψη ως μέσο μοριακό βάρος τα 6050 Da (Onosaka και Cherian, 1982).

13.7. Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με χρήση του στατιστικού προγράμματος SPSS© (έκδοση 13.0). Ως βαθμός εμπιστοσύνης ορίστηκε το 95%. Σε κάθε πειραματική διεργασία πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης ανάλογα με την περίπτωση και την ύπαρξη πολλαπλών παραγόντων ή μεταβλητών, όπως για παράδειγμα είναι η μονομεταβλητή και η πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε η μεθοδολογία περιγραφικής στατιστικής καθώς και η μελέτη πιθανής συσχέτισης εξαρτημένων μεταβλητών – συντελεστές συσχέτισης Pearson και Spearman. Στο κεφάλαιο των αποτελεσμάτων και συζήτησης γίνεται αναφορά στη μεθοδολογία στατιστικής ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε περίπτωση επεξεργασίας και ερμηνείας των αποτελεσμάτων.

13.8. Ποιοτικός έλεγχος της αναλυτικής εργασίας

Η αναλυτική μέθοδος του προσδιορισμού της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της αναλυτικής εργασίας βασίστηκε στην επίσημη μέθοδο της AOAC (999.10) για το μόλυβδο και το κάδμιο στα τρόφιμα (AOAC 2000). Ως πιστοποιημένο υλικό για την επικύρωση και τον ποιοτικό έλεγχο της αναλυτικής εργασίας χρησιμοποιήθηκε το πιστοποιημένο από την Ευρωπαϊκή Κοινότητα υλικό αναφοράς του ιστού μυδιών ERM-287 (Κέντρο Ερευνών της Ε.Ε., Ινστιτούτο Υλικών Αναφοράς και Μετρήσεων, Geel, Βέλγιο).

Τα αποτελέσματα επικύρωσης της μεθόδου ήταν τα εξής:

- ακρίβεια, εκφραζόμενη ως σχετική τυπική απόκλιση (RSDr): 3,2% για το Cd και 3,9% για το Pb.
- LOQ: 0,17 µg/L και 2,1 µg/L για το Cd και Pb, αντίστοιχα.
- Εύρος αποκατάστασης ήταν 94-103% και 94-107% για το Cd και Pb, αντίστοιχα.
- Αβεβαιότητα σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95%: 0,064 mg/kg και 0,087 mg/kg για το Cd και Pb, αντίστοιχα.

Ένας συνεχής ποιοτικός έλεγχος της αναλυτικής διεργασίας διεξήχθη κατά τη διάρκεια του πειράματος χρησιμοποιώντας ως πρότυπο ελέγχου το παραπάνω πιστοποιημένο πρότυπο υλικό αναφοράς.

Οι παραπάνω έλεγχοι πραγματοποιήθηκαν ακολουθώντας σε γενικές γραμμές τις κατευθυντήριες οδηγίες της ΕΕ για τον ποιοτικό έλεγχο της αναλυτικής διεργασίας (απόφαση 2002/657).

III.
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Κεφάλαιο 14. Νωπά Ψάρια

14.1 Σαρδέλα

14.1.1. Κάδμιο

Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα σχετικά με το κάδμιο στη νωπή σαρδέλα δίνονται στον πίνακα 14.1. Η συγκέντρωση του καδμίου στη νωπή σαρδέλα (σάρκα) κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα, από 0,002 ως 0,022 mg/kg με μέσο όρο τα $0,008 \pm 0,005$ mg/kg. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας δείχνουν ότι η συγκέντρωση του καδμίου στις τρεις εξεταζόμενες περιοχές δειγματοληψίας της Μεσογείου (κόλπος της Τυνησίας, Αδριατική θάλασσα και Αιγαίο πέλαγος) βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα. Ως μέσος όρος, το κάδμιο βρίσκεται περίπου 12 φορές χαμηλότερα από το ισχύον νομοθετικό όριο της Ευρωπαϊκής Ένωσης (0,1 mg/kg). Συνεπώς, οι τιμές που καταγράφηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη δείχνουν ότι οι αλιευμένες σαρδέλες του είδους *Sardinia pilchardus* των τριών περιοχών της Μεσογείου παρουσιάζουν χαμηλή συγκέντρωση καδμίου και επομένως μικρό κίνδυνο τοξικότητας από κάδμιο.

Εκτός από τον προσδιορισμό του καδμίου στη σάρκα της σαρδέλας, αντίστοιχη ανάλυση των δειγμάτων έγινε και στο συνδετικό ιστό (οστό). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το οστό είναι σημαντικά επιβαρυνόμενο με κάδμιο. Οι τιμές του καδμίου στο οστό κυμάνθηκαν από 0,03 έως 0,073 με μέσο όρο τα $0,042 \pm 0,013$ mg/kg. Η στατιστική ανάλυση για τη σύγκριση της συγκέντρωσης καδμίου στη σάρκα και στο οστό της σαρδέλας έδειξε ότι περιέχει σημαντικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καδμίου ($F=313,61$, $P<0,05$) και ως μέσος όρος να συγκεντρώνει πενταπλάσια περίπου συγκέντρωση καδμίου σε σχέση με τη σάρκα του ίδιου ψαριού.

Ο πίνακας 14.1. δίνει πληροφορίες σχετικά με τη συγκέντρωση καδμίου σε σαρδέλες που αλιεύτηκαν σε διάφορες περιοχές της Μεσογείου, από δημοσιευμένες έρευνες τα τελευταία 20 έτη. Όπως φαίνεται και από τα δεδομένα του πίνακα, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης βρίσκονται κατά προσέγγιση κοντά σε αποτελέσματα που αφορούν σε σαρδέλες της ελληνικής αγοράς (Kalogeropoulos et al., 2012), αλλά και της Ισπανικής αγοράς (Falco et al., 2006; Marti-Cid et al., 2008). Σε άλλες αλιευτικές περιοχές έχουν καταγραφεί

μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καδμίου, όπως για παράδειγμα σε σαρδέλες της αγοράς της Αιγύπτου (Abou-Arab et al., 1996), της δυτικής Μεσογείου (Pastor et al., (2006), καθώς και της περιοχής του καναλιού του Σουέζ (Soliman, 2006) και της Τουρκίας (Özden 2013; Canli and Atli, 2003).

Οι διαφορές μεταξύ των αποτελεσμάτων αποδίδονται σε διάφορους παράγοντες, όπως είναι για παράδειγμα η περιοχή δειγματοληψίας, το επίπεδο μόλυνσης των υδάτων, ο χρόνος και η εποχή αλίευσης, το μέγεθος των αλιευμάτων, αλλά και διαφοροποιήσεις της κάθε αναλυτικής διαδικασίας, όπως η μεθοδολογία της κάθε ανάλυσης, η χρήση δειγμάτων ξηρού ή υγρού βάρους, το επίπεδο ευαισθησίας της κάθε μεθόδου κ.α.

Πίνακας 14.1. Συγκέντρωση καδμίου στη νωπή σαρδέλα (*Sardinia pilchardus*) από έρευνες σε διάφορες αλιευτικές περιοχές της Μεσογείου, τα έτη 1993-2013.

<i>Τοποθεσία αλίευσης</i>	<i>Μέγεθος δείγματος (s)</i>	<i>Έτος αλίευσης</i>	<i>Κάδμιο (μέσος όρος ± τυπική απόκλιση, mg/kg)</i>	<i>Αναφορά</i>
Μεσόγειος θάλασσα	50	2008/2009	0,008 ± 0,005	Παρούσα μελέτη
-Αδριατική θάλασσα	20	2008/2009	0,007 ± 0,003	Παρούσα μελέτη
-Θερμαϊκός κόλπος, Β. Αιγαίο	20	2008/2009	0,01 ± 0,005	Παρούσα μελέτη
-Κόλπος Τυνησίας	10	2008/2009	0,005 ± 0,003	Παρούσα μελέτη
Αθήνα, Ελλάδα (αγορά)	4	2011	0,008± 0,005	Kalogeropoulos et. al. (2013)
Κωνσταντινούπολη, Τουρκία (αγορά)	12	2006/2007	0,05± 0,02	Özden (2013)
Ανατολική Μεσόγειος, Τουρκία	3	2002	0,55 ± 0,08*	Canli and Atli (2003)
Καταλονία, Ισπανία (αγορά)	3	2005	0,002 - 0,01	Falcó et al (2006)
Καταλονία, Ισπανία (αγορά)	4	2006	0,003	Marti-Cid et al. (2008)
Δυτική Μεσόγειος, Ισπανία	38	1993	0,043*	Pastor et al. (1994)
Διώρυγα Σουέζ	20	2005	0,028 ± 0,012	Soliman (2006)

* μέτρηση σε δείγματα ξηρού βάρους (dry weight sample)

Μια από τις σημαντικότερες παραμέτρους που μπορεί να επηρεάσει τη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων είναι η περιοχή δειγματοληψίας. Για τη διερεύνηση της επίδρασης της περιοχής αλίευσης στη συγκέντρωση του καδμίου εξετάστηκαν τρεις σημαντικές αλιευτικές ζώνες σαρδέλας στη Μεσόγειο θάλασσα: ο Θερμαϊκός κόλπος- βόρειο Αιγαίο, από τον οποίο λήφθηκαν 20 δείγματα, η Αδριατική θάλασσα (20 δείγματα) και ο κόλπος της Τυνησίας (10 δείγματα). Οι μέσες τιμές καδμίου για τις τρεις περιοχές της δειγματοληψίας βρέθηκαν σχεδόν ίσες προς $0,01 \pm 0,005$ mg/kg, $0,007 \pm 0,003$ mg/kg και $0,01 \pm 0,005$ mg/kg για το βόρειο Αιγαίο, την Αδριατική και την Τυνησία αντίστοιχα.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με χρήση πολυπαραγοντικού σχεδίου ανάλυσης διακύμανσης- πολυμεταβλητής ανάλυσης (multivariate analysis) και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 14.2. Όπως φαίνεται και από τα δεδομένα του πίνακα, η συγκέντρωση του καδμίου επηρεάστηκε από την περιοχή δειγματοληψίας, καθώς οι διαφορές της συγκέντρωσης του καδμίου ανάμεσα στις περιοχές δειγματοληψίας βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές ($F=20,62$, $P<0,05$). Η Τυνησία παρουσίασε τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις καδμίου, ενώ το Βόρειο Αιγαίο τις υψηλότερες συγκεντρώσεις καδμίου (σχήμα 14.2).

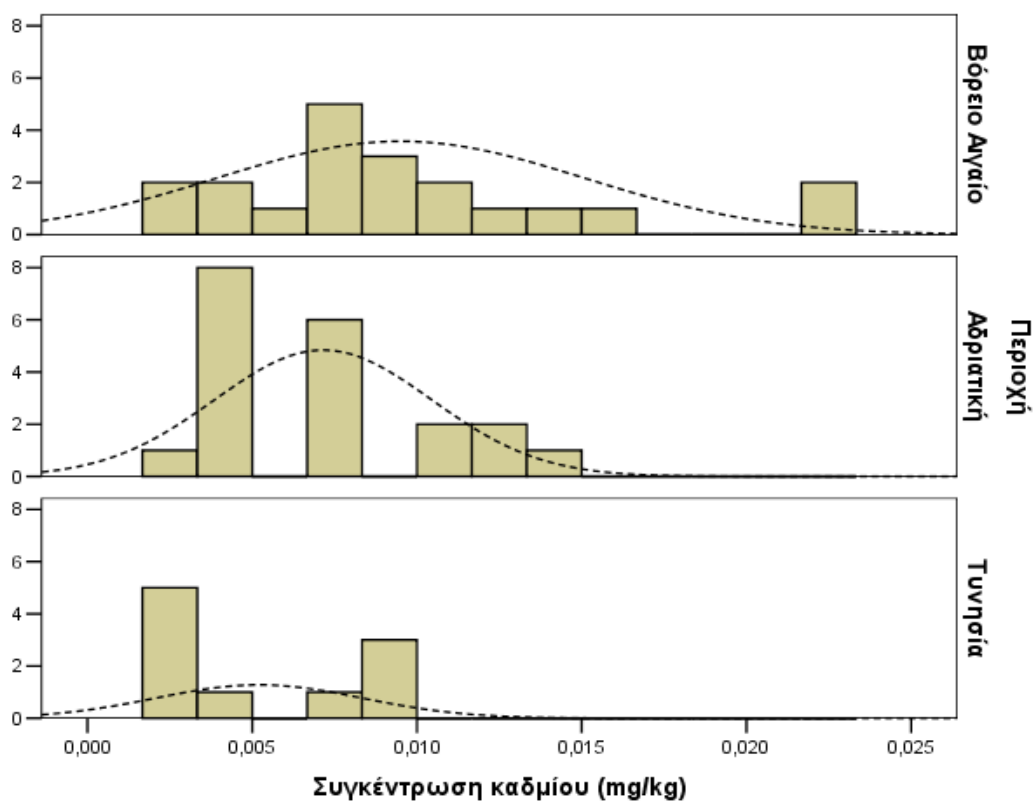
Η μεγαλύτερη συγκέντρωση καδμίου στο Βόρειο Αιγαίο σε σχέση με τις άλλες περιοχές δειγματοληψίας αποδίδεται στο υψηλό επίπεδο ρύπανσης της περιοχής καθώς και στο γεγονός ότι στο Θερμαϊκό κόλπο, το σημείο δειγματοληψίας του Βορείου Αιγαίου, εκρέουν τρία ποτάμια που σύμφωνα με τη βιβλιογραφία μπορούν να αποτελέσουν σημαντικούς παράγοντες ρύπανσης των υδάτων εκροής με αυξημένες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων (Dauvin 2008).

Πίνακας 14.2. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για την επίδραση της περιοχής αλίευσης, της ημερομηνίας αλίευσης και του μεγέθους των αλιευμάτων στην συγκέντρωση του καδμίου. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Ανεξάρτητη μεταβλητή	Εξαρτημένη μεταβλητή	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	Τιμή F	Sig. P
Περιοχή αλίευσης	Cd	0,000	1	0,000	20,622	0,000
Ημερομηνία αλίευσης	Cd	0,000	6	4,95E-005	6,013	0,001
Μέγεθος	Cd	8,16E-005	8	1,02E-005	1,238	0,326
Περιοχή * Ημερομηνία	Cd	0,000	0	4,56E-005	5,023	0,006
Περιοχή * Μέγεθος	Cd	1,80E-005	1	1,80E-005	2,185	0,154
Ημερομηνία* Μέγεθος	Cd	0,000	0	.	.	.
Περ.* Ημερ.* Μέγεθος	Cd	0,000	0	.	.	.
Error	Cd	0,000	21	8,24E-006		
Total	Cd	0,004	50			
Corrected Total	Cd	0,001	49			

Σχετικά με την προγενέστερη έρευνα πάνω στην επίδραση της περιοχής αλίευσης στη συγκέντρωση καδμίου, ερευνητές στην Αδριατική θάλασσα δε βρήκαν συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης καδμίου και της περιοχής δειγματοληψίας (Desideri et al., 2010). Σε μια άλλη σχετική έρευνα στη δυτική Μεσόγειο, βρέθηκε ότι η συγκέντρωση του καδμίου επηρεάζεται από την αλιευτική ζώνη και επιπλέον παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση σε παράκτιες αλιευτικές ζώνες με αυξημένη βιομηχανική δραστηριότητα και συγκεντρωμένο αστικό πληθυσμό (Pastor et al., 1994).

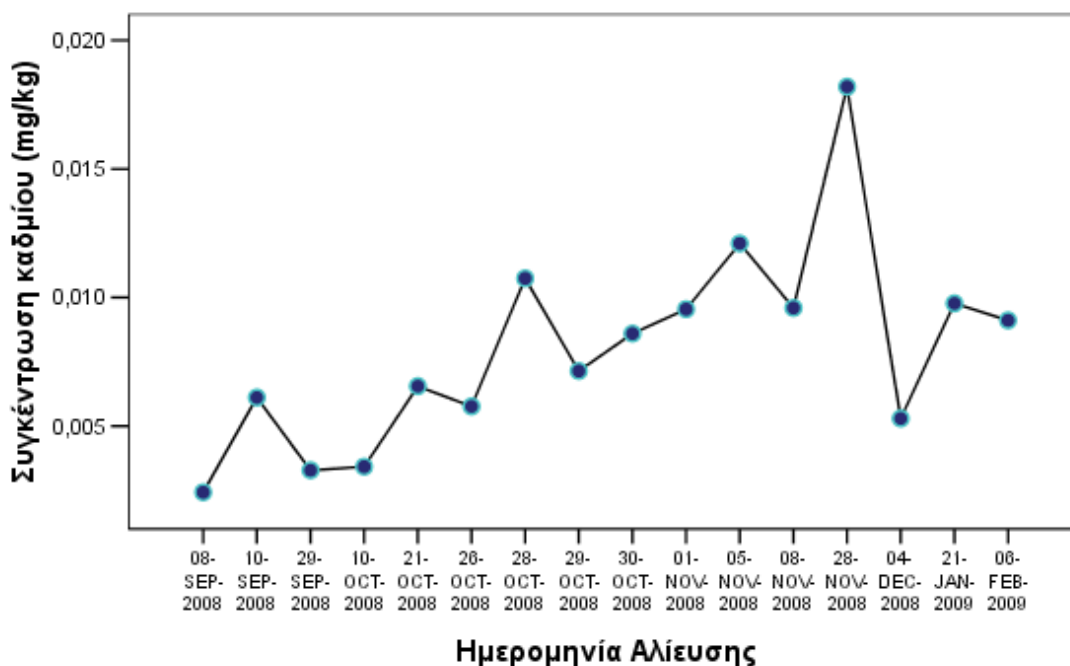
Στη βιβλιογραφία αναφέρονται διάφοροι παράγοντες που μπορούν να συνεισφέρουν στην επιβάρυνση μιας συγκεκριμένης αλιευτικής ζώνης με βαρέα μέταλλα, όπως για παράδειγμα προαναφέρθηκαν οι εκροές των ποταμών αλλά και η άμεση απόρριψη βιομηχανικών, αγροτικών και αστικών αποβλήτων, χωρίς προηγούμενη μέριμνα σωστής περιβαλλοντικής διαχείρισης (Torcuoğlu et al., 2002).



Σχήμα 14.2. Ιστογράμματα της συγκέντρωσης καδμίου στις τρεις εξεταζόμενες περιοχές δειγματοληψίας. Οι τιμές είναι σε mg/kg.

Μια ακόμα σημαντική παράμετρος που μπορεί να επηρεάσει τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων είναι η εποχή της αλίευσης. Για να διερευνηθεί αν η συγκέντρωση καδμίου επηρεάστηκε από την ημερομηνία αλίευσης στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων με εφαρμογή ανάλυσης διακύμανσης και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 14.1.1.2. Όπως φαίνεται από τα δεδομένα του πίνακα, το κάδμιο επηρεάστηκε σημαντικά από την εποχή αλίευσης ($F=6,013$ $P<0,05$). Συγκριτικά με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης και άλλων ερευνών πάνω στη σχέση συγκέντρωσης καδμίου και ημερομηνίας αλίευσης, σε πρόσφατη μελέτη σε διάφορα αλιεύματα της ανατολικής Μεσογείου και συγκεκριμένα στην Τουρκία βρέθηκε ότι η ημερομηνία αλίευσης επηρέασε τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων, συμπεριλαμβανομένου του καδμίου στη σαρδέλα. Η επίδραση της εποχής αλίευσης στη συγκέντρωση καδμίου αποδίδεται, κυρίως σε φυσιολογικές διαφοροποιήσεις των αλιευμάτων, κατά τη

διάρκεια του έτους (Özden, 2013). Καθώς τελικά εντοπίζονται εποχικές διαφορές στη συγκέντρωση καδμίου κατά τη διάρκεια του έτους (σχήμα 14.2), συνιστάται η συχνή παρακολούθηση των βαρέων μετάλλων, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η ασφάλεια και η προστασία των καταναλωτών από την έκθεση σε αυξημένα επίπεδα βαρέων μετάλλων.



Σχήμα 14.2. Η επίδραση της ημερομηνίας αλίευσης στη συγκέντρωση του καδμίου.

Η τρίτη παράμετρος που διερευνήθηκε ως παράγοντας επίδρασης της συγκέντρωσης του καδμίου στη νωπή σαρδέλα είναι το μέγεθος των αλιευμάτων. Η παράμετρος μεγέθους που επιλέχθηκε αποτέλεσε το μέσο βάρος της κάθε σαρδέλας σε γραμμάρια, καθώς είναι και η κύρια παράμετρος που καθορίζει την εμπορική αξία των ψαριών αυτών. Στον πίνακα 14.2. φαίνονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης. Το μέγεθος των αλιευμάτων σαρδέλας δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση του καδμίου ($F=1,238$, $P>0,05$). Τα δεδομένα της βιβλιογραφίας σχετικά με τη συσχέτιση βαρέων μετάλλων-μεγέθους αλιευμάτων στη σαρδέλα, αλλά και σε άλλα αλιεύματα δεν έχουν δώσει ξεκάθαρη τάση συσχέτισης μέχρι σήμερα, εκτός από τον υδράργυρο. Ο υδράργυρος έχει διερευνηθεί διεξοδικά σε πολλά είδη αλιευμάτων

και φαίνεται ότι βιοαποικοδομείται, ανάλογα με τη διάρκεια ζωής, το μέγεθος και θέση του αλιεύματος στην τροφική αλυσίδα. Για το λόγο αυτό, μεγάλα αλιεύματα με αυξημένη διάρκεια ζωής, όπως ο τόνος και ο ξιφίας, συγκεντρώνουν υψηλότερες συγκεντρώσεις υδραργύρου από τα μικρά ψάρια, τα οποία έχουν πιο σύντομη διάρκεια ζωής και βρίσκονται χαμηλότερα στην τροφική αλυσίδα (Burger et al., 2001; Storelli et al., 2010).

Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι η συγκέντρωση του καδμίου μπορεί να επηρεαστεί από την εποχή της αλίευσης και την περιοχή αλίευσης. Καθώς από τα αποτελέσματα της πειραματικής διεργασίας φάνηκε ότι περισσότερες από μια ανεξάρτητες μεταβλητές μπορούν να επηρεάσουν την ίδια παράμετρο, διερευνήθηκε στατιστικά και η πιθανή αλληλεπίδραση των τριών παραγόντων (περιοχή-ημερομηνία-μέγεθος) και τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 14.2. Από τη συσχέτιση της αλληλεπίδρασης των ανεξάρτητων μεταβλητών φαίνεται ότι στο κάδμιο, η ημερομηνία και η περιοχή παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση ($F=5,023$, $P<0,05$), ενώ αντίθετα το μέγεθος δεν αλληλεπιδρά σημαντικά με την περιοχή δειγματοληψίας ($F=2,185$, $P>0,05$). Το επίπεδο αλληλεπίδρασης των δύο μεταβλητών περιοχής-εποχής υπολογίστηκε στο 21,8% (Partial Eta Squared) και άρα το 21,8% της διασποράς του καδμίου στη σαρδέλα οφείλεται στην αλληλεπίδραση της περιοχής και ημερομηνίας αλίευσης.

Η στατιστικά σημαντική τιμή της αλληλεπίδρασης περιοχής-ημερομηνίας αλίευσης δηλώνει ότι η επίδραση της περιοχής αλίευσης πάνω στη συγκέντρωση καδμίου δεν είναι η ίδια για όλες τις εποχές αλίευσης και επομένως, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη και οι δύο παράμετροι όταν εξετάζεται η συγκέντρωση καδμίου στα αλιεύματα της σαρδέλας. Η προγενέστερη βιβλιογραφία δεν αναφέρεται ειδικά στην αλληλεπίδραση των συγκεκριμένων παραγόντων, τονίζεται όμως ότι αποτελούν δύο σημαντικές παραμέτρους διακύμανσης των βαρέων μετάλλων στη σαρδέλα και σε παρόμοια μικρά αλιεύματα, όπως ο γαύρος, το μπαρμπούνι κ.ά. (Özden, 2013).

14.1.2. Μόλυβδος.

Τα αποτελέσματα για τη συγκέντρωση του μολύβδου στη σάρκα της σαρδέλας δίνονται στον πίνακα 14.3. Ως μέσος όρος, ο μολύβδος βρέθηκε ίσος με $0,166 \pm 0,06$ mg/kg. Οι τιμές του μολύβδου στα δείγματα κυμάνθηκαν μεταξύ 0,075-0,297 mg/kg. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η συγκέντρωση του μολύβδου στις τρεις εξεταζόμενες περιοχές δειγματοληψίας της Μεσογείου (κόλπος της Τυνησίας, Αδριατική θάλασσα και Αιγαίο πέλαγος) βρίσκεται σε μέτρια προς αυξημένα επίπεδα. Ως μέσος όρος, ο μολύβδος βρίσκεται περίπου στο 50% του ισχύοντος νομοθετικού ορίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης (0,3 mg/kg).

Αξίζει να σημειωθεί πάντως ότι 10% των δειγμάτων που αναλύθηκαν προσεγγίζουν το νομοθετικό όριο της Ε.Ε. κατά 75%. Συνεπώς, οι τιμές που καταγράφηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη δηλώνουν ότι οι αλιευμένες σαρδέλες του είδους *Sardinia pilchardus* παρουσιάζουν μέτρια και σε ορισμένες περιπτώσεις υψηλή συγκέντρωση μολύβδου και άρα μέτρια προς αυξημένα επίπεδα τοξικότητας μολύβδου. Αξίζει να σημειωθεί ότι 2 δείγματα άγγιξαν το νομοθετικό όριο της Ε.Ε., γεγονός που υποδεικνύει ότι η πιθανότητα έκθεσης στο μολύβδο από κατανάλωση σαρδέλας είναι αυξημένη και άρα τα επίπεδα μολύβδου στη σαρδέλα πρέπει να βρίσκονται υπό τακτική παρακολούθηση, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η προστασία των καταναλωτών από πιθανή έκθεση στο μέταλλο αυτό.

Ανάλογη ανάλυση των δειγμάτων μολύβδου πραγματοποιήθηκε και στο οστό της σαρδέλας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο ιστός αυτός περιείχε κατά μέσο όρο $0,846 \pm 0,29$ mg/kg, με τις τιμές να κυμαίνονται μεταξύ 0,41 έως 1,47 mg/kg. Είναι φανερό ότι οι τιμές μολύβδου στο οστό είναι πολλαπλάσιες από αυτές της σάρκας, όπως αποδεικνύεται και από την ανάλυση διακύμανσης για τη σύγκριση των δύο ιστών ($F=7,534$, $P<0,05$). Ως μέσος όρος, το οστό ξεπέρασε τρεις φορές το ευρωπαϊκό νομοθετικό όριο των 0,3 mg/kg.

Λαμβάνοντας υπόψη και τα παραπάνω δεδομένα του καδμίου, συμπεραίνεται ότι στη σαρδέλα ο συνδυαστικός ιστός αποτελεί το κύριο σημείο συσσώρευσης των μετάλλων αυτών. Τα ερευνητικά δεδομένα πάνω στη συσσώρευση των βαρέων μετάλλων στα οστά της σαρδέλας είναι περιορισμένα. Μια σχετική προγενέστερη έρευνα στο ψάρι *Tilapia nilotica* έδειξε ότι ο

συνδετικός ιστός συσσωρεύει 3-5 φορές περισσότερο κάδμιο και μόλυβδο από τη σάρκα του ψαριού, γεγονός το οποίο βρίσκεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας (Atta et al., 1997). Ένα σημαντικό συμπέρασμα της έρευνας αυτής είναι ότι καθώς τα μικρά ψάρια, όπως η σαρδέλα μπορούν να καταναλωθούν μαζί με το οστό ή τα οστά να χρησιμοποιηθούν σε νέα προϊόντα, όπως το υδρολυμένο κολλαγόνο, θα πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη σημασία στις περιπτώσεις πιθανής κατανάλωσης του συνδετικού ιστού. Όταν το οστό προορίζεται έμμεσα ή άμεσα για κατανάλωση, βασικό μέλημα θα πρέπει να είναι ο ποσοτικός έλεγχος για βαρέα μέταλλα. Επίσης, στα μικρά αλιεύματα που μπορούν να καταναλωθούν μαζί με το οστό, οι μετρήσεις καταλοίπων βαρέων μετάλλων για την καταλληλότητα των αλιευμάτων θα πρέπει να συμπεριλαμβάνουν το οστό μαζί με το υπόλοιπο ψάρι, έτσι ώστε να λαμβάνονται αντιπροσωπευτικά αποτελέσματα για την απόρριψη ή αποδοχή μιας πρώτης ύλης προς κατανάλωση.

Ο πίνακας 14.3. δίνει ερευνητικά δεδομένα σχετικά με τη συγκέντρωση μολύβδου σε σαρδέλες που αλιεύτηκαν σε διάφορες περιοχές της Μεσογείου τα τελευταία 20 έτη. Όπως φαίνεται και από τα στοιχεία του πίνακα, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης και ιδιαίτερα της Τυνησίας βρίσκονται σε συμφωνία με αποτελέσματα συγκέντρωσης μολύβδου από σαρδέλες της ελληνικής αγοράς (Kalogeropoulos et al., 2012) και της Δυτικής Μεσογείου (Pastor et al., 1994), ενώ σε άλλες αλιευτικές περιοχές της ανατολικής Μεσογείου έχουν καταγραφεί υψηλότερες συγκεντρώσεις μολύβδου, όπως για παράδειγμα σε σαρδέλες που αλιεύτηκαν στις ακτές της Τουρκίας (Özden, 2013; Canli and Atli, 2003). Αντιθέτως, παρόμοιες μελέτες σε αλιεύματα σαρδέλας της Δυτικής Μεσογείου παρουσίασαν μικρότερες συγκεντρώσεις μολύβδου (Falcó et al., 2006; Marti-Cid et al., 2008).

Μια σημαντική παρατήρηση είναι ότι στα ίδια δείγματα σαρδέλας, ο μόλυβδος παρουσίασε πολλαπλάσια μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε σχέση με το κάδμιο. Μάλιστα, σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως στα δείγματα του Βόρειου Αιγαίου, ο μόλυβδος ξεπέρασε πάνω από 20 φορές τη συγκέντρωση του καδμίου. Η παρατήρηση αυτή είναι σε συμφωνία με προγενέστερα αποτελέσματα σαρδέλας και γαύρου διαφόρων περιοχών της Μεσογείου, όπου σε όλες τις μελέτες ο μόλυβδος σημείωσε πολλαπλάσιες τιμές σε σχέση με το

κάδμιο (Pastor et al. 1994; Canli and Atli, 2003; Túrkmén et al., 2008; Tuzen, 2009). Η διαφορά αυτή οφείλεται σε ποικίλους περιβαλλοντικούς και φυσιολογικούς παράγοντες, όπως για παράδειγμα είναι το διαφορετικό επίπεδο θαλάσσιας ρύπανσης σε μόλυβδο και κάδμιο, αλλά και σε διαφορές στη μεταβολική συμπεριφορά έναντι των διαφόρων βαρέων μετάλλων (Cd, Pb).

Πίνακας 14.3. Συγκέντρωση μολύβδου στη νωπή σαρδέλα (*Sardinia pilchardus*) από έρευνες σε διάφορες αλιευτικές περιοχές της Μεσογείου, τα έτη 1993-2013.

<i>Τοποθεσία αλίευσης</i>	<i>Μέγεθος δείγματος (s)</i>	<i>Έτος αλίευσης</i>	<i>Μολύβδος (μέσος όρος ±τυπική απόκλιση, mg/kg)</i>	<i>Αναφορά</i>
Μεσόγειος θάλασσα	50	2008/2009	0,166 ± 0,06	Παρούσα μελέτη
-Αδριατική θάλασσα	20	2008/2009	0,143 ± 0,04	Παρούσα μελέτη
-Θερμαϊκός κόλπος, Β. Αιγαίο	20	2008/2009	0,217 ± 0,04	Παρούσα μελέτη
-Κόλπος Τυνησίας	10	2008/2009	0,109 ± 0,03	Παρούσα μελέτη
Αθήνα, Ελλάδα (αγορά)	4	2011	0,11 ± 0,02	Kalogeropoulos et. al. (2013)
Κωνσταντινούπολη, Τουρκία (αγορά)	12	2006/2007	0,42 ± 0,01	Özden (2013)
Ανατολική Μεσόγειος, Τουρκία	3	2002	5,57 ± 1,03*	Canli and Atli (2003)
Καταλονία, Ισπανία (αγορά)	3	2005	0,01 - 0,08	Falcó et al (2006)
Καταλονία, Ισπανία (αγορά)	4	2006	0,027	Marti-Cid et al. (2008)
Δυτική Μεσόγειος, Ισπανία	38	1993	0,105*	Pastor et al. (1994)
Διώρυγα Σουέζ	20	2005	---	Soliman (2006)

*μέτρηση σε δείγματα ξηρού βάρους (dry weight sample)

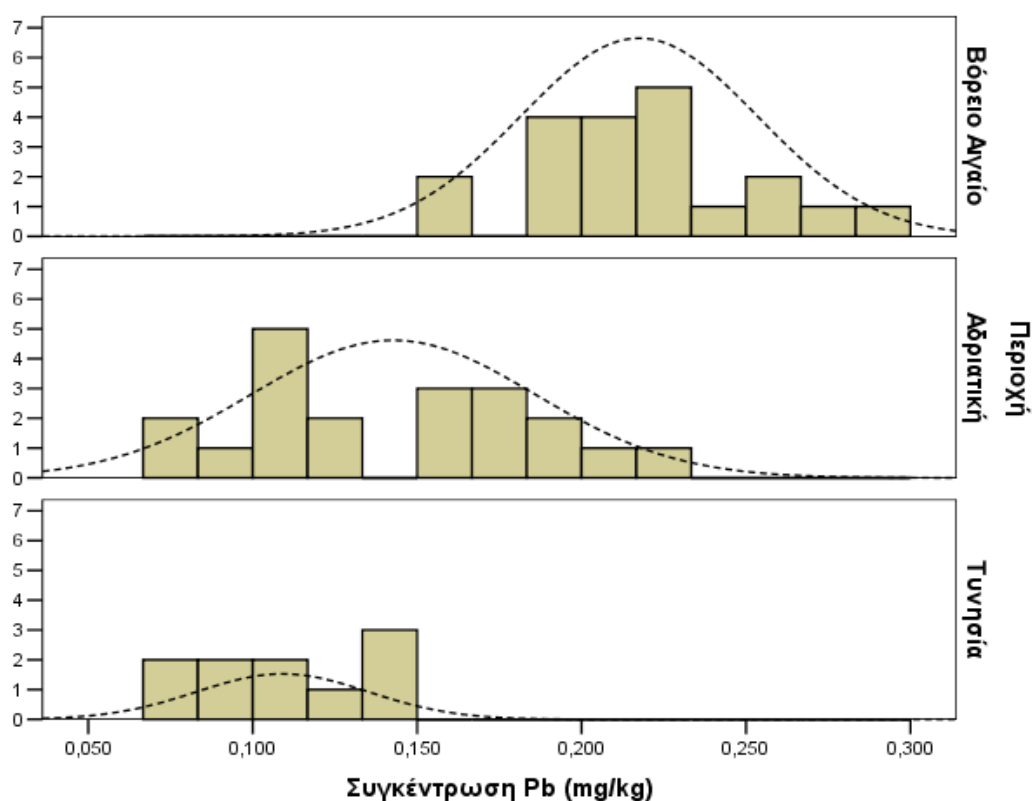
Όπως προαναφέρθηκε, η συγκέντρωση του μολύβδου στα αλιεύματα μπορεί να επηρεαστεί τόσο από περιβαλλοντικούς, όσο και από φυσιολογικούς παράγοντες. Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε σχετική διερεύνηση της επίδρασης της τοποθεσίας αλίευσης στη συγκέντρωση του μολύβδου. Σημειώνεται ότι για τη διερεύνηση αυτή, τα δείγματα σαρδέλας αλιεύτηκαν από τρεις διαφορετικές ζώνες της Μεσογείου, την Τυνησία (Δυτική Μεσόγειος-FAO 37.1.3), την Αδριατική θάλασσα (Κεντρική Μεσόγειος FAO 37.2.1) και το Βόρειο Αιγαίο (Ανατολική Μεσόγειος FAO 37.1.1). Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 14.3. Οι μέσες τιμές μολύβδου βρέθηκαν $0,217 \pm 0,04$, $0,143 \pm 0,04$ και $0,109 \pm 0,03$ για το Βόρειο Αιγαίο, την Αδριατική θάλασσα και τον κόλπο της Τυνησίας αντίστοιχα. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων με τη χρήση πολυπαραγοντικού σχεδίου ανάλυσης διακύμανσης- πολυμεταβλητής ανάλυσης (multivariate analysis) και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 14.4.

Πίνακας 14.4. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για την επίδραση της περιοχής αλίευσης, της ημερομηνίας αλίευσης και του μεγέθους των αλιευμάτων σαρδέλας στην συγκέντρωση του μολύβδου. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Ανεξάρτητη μεταβλητή	Εξαρτημένη μεταβλητή	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	Τιμή F	Sig. P
Περιοχή αλίευσης	Pb	0,021	1	0,021	36,974	0,000
Ημερομηνία αλίευσης	Pb	0,0012	6	0,002	3,395	0,017
Μέγεθος	Pb	0,017	8	0,002	3,682	0,008
Περιοχή * Ημερομηνία	Pb	0,000	0	0,001	1,073	0,375
Περιοχή *Μέγεθος	Pb	0,002	1	0,002	3,158	0,090
Ημερομηνία* Μέγεθος	Pb	0,000	0	.	.	.
Περ.* Ημερ.* Μέγεθος	Pb	0,000	0	.	.	.
Error	Pb	0,012	21	0,001		
Total	Pb	1,538	50			
Corrected Total	Pb	0,163	49			

Όπως φαίνεται και από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, η συγκέντρωση του μολύβδου επηρεάστηκε από την περιοχή δειγματοληψίας, καθώς οι διαφορές της συγκέντρωσης του μολύβδου ανάμεσα στις τρεις περιοχές αλίευσης βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές ($F= 35,97$, $P<0,05$). Παρόμοια και με το κάδμιο, τα αλιεύματα από τον κόλπο της Τυνησίας παρουσίασαν τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις μολύβδου, ενώ αυτά από το Βόρειο Αιγαίο τις υψηλότερες (σχήμα 14.3).

Η διαφορά συγκέντρωσης μολύβδου στις σαρδέλες που συλλέχθηκαν στις τρεις αλιευτικές ζώνες, πιθανότατα να οφείλεται στο διαφορετικό επίπεδο ρύπανσης των τριών περιοχών, λόγω διαφοράς στη βιομηχανική δραστηριότητα των αλιευτικών περιοχών ή και λόγω διαφορετικής παράκτιας δραστηριότητας των αστικών ζωνών, καθώς επίσης και λόγω του διαφορετικού ρυθμού ανανέωσης των υδάτων στις τρεις ζώνες της Μεσογείου που εξετάστηκαν.



Σχήμα 14.3. Ιστογράμματα της συγκέντρωσης μολύβδου στις τρεις εξεταζόμενες περιοχές δειγματοληψίας. Οι τιμές είναι σε mg/kg.

Σχετικά με την προγενέστερη έρευνα πάνω στην επίδραση της περιοχής αλίευσης στη συγκέντρωση μολύβδου και στο είδος σαρδέλας *Sardinia pilchardus*, τα ερευνητικά αποτελέσματα είναι αρκετά περιορισμένα. Σε μια σχετική έρευνα στη Δυτική Μεσόγειο βρέθηκε υψηλότερη συγκέντρωση μολύβδου σε συγκεκριμένες αλιευτικές περιοχές της Μεσογείου με μολυσμένα νερά σε σχέση με λιγότερο μολυσμένες περιοχές, άρα συμπεραίνεται ότι η συγκέντρωση του μετάλλου αυτού επηρεάζεται από το επίπεδο ρύπανσης των αλιευτικών περιοχών (Pastor et al., 1994).

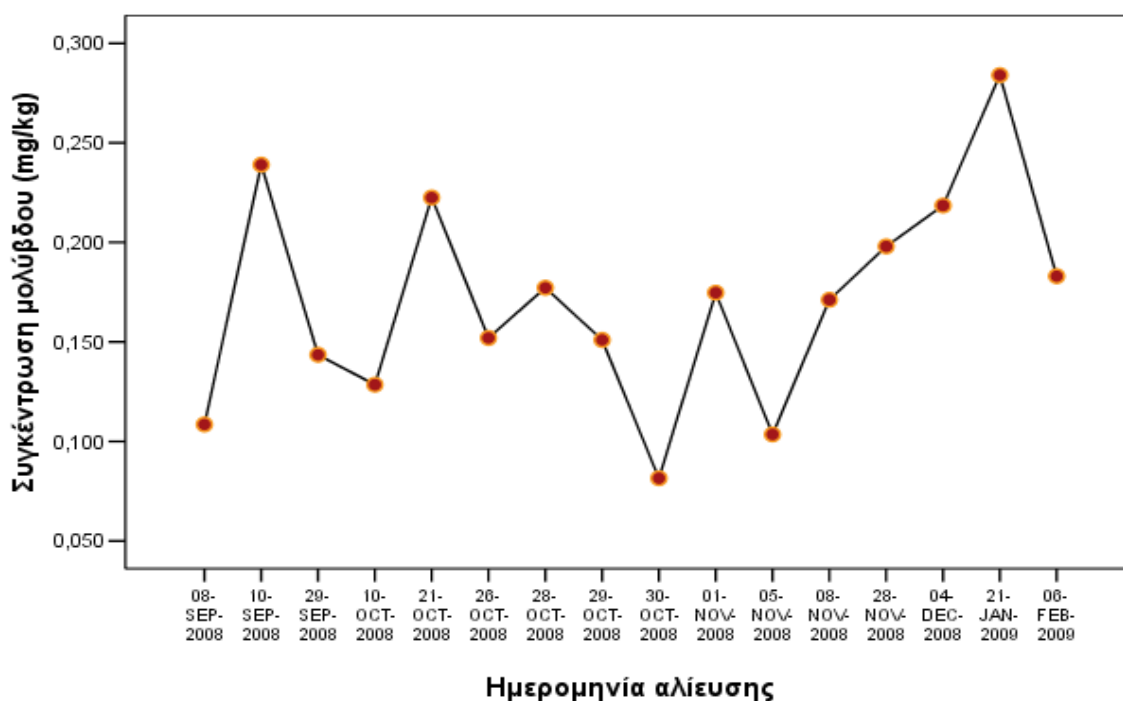
Μια άλλη σημαντική παρατήρηση που προκύπτει από τη διερεύνηση των αποτελεσμάτων είναι ότι τα δείγματα της Ανατολικής Μεσογείου παρουσίασαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καδμίου και μολύβδου από τα δείγματα που συλλέχθηκαν στη Δυτική Μεσόγειο. Η διερεύνηση των αποτελεσμάτων πάνω στη σαρδέλα *Sardinia pilchardus* και στη συγκέντρωση μολύβδου δείχνει ότι υπάρχει μια τάση αύξησης της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων από τις δυτικές περιοχές προς το εσωτερικό της Μεσογείου. Εκτός από το διαφορετικό επίπεδο ρύπανσης που πιθανότατα επηρεάζει την τελική συγκέντρωση βαρέων μετάλλων στα αλιεύματα, πιθανόν και ο ρυθμός ανανέωσης των υδάτων της Μεσογείου να επηρεάζει το επίπεδο ρύπανσης και άρα τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στις σαρδέλες.

Βιβλιογραφικά αναφέρεται ότι ο ρυθμός ανανέωσης των υδάτων στη Μεσόγειο διαφοροποιείται από το εξωτερικό προς το εσωτερικό της Μεσογείου, επομένως φαίνεται ότι αυτή η παράμετρος επηρεάζει αρνητικά το επίπεδο ρύπανσης των αλιευτικών περιοχών της Ανατολικής Μεσογείου. Άλλοι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στα διαφορετικά θαλάσσια οικοσυστήματα είναι φυσικοχημικές παράμετροι του νερού, όπως το pH, το ποσοστό αλατότητας, η θερμοκρασία, η σκληρότητα και η παρουσία άλλων μετάλλων και ιχνοστοιχείων (EEA, 2006).

Η δεύτερη παράμετρος πιθανής επίδρασης στη συγκέντρωση μολύβδου ήταν η ημερομηνία αλίευσης. Για να διερευνηθεί αν η συγκέντρωση καδμίου επηρεάστηκε από την ημερομηνία αλίευσης πραγματοποιήθηκε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων με εφαρμογή ανάλυσης πολυπαραγοντικής διακύμανσης και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 14.4. Παρομοίως

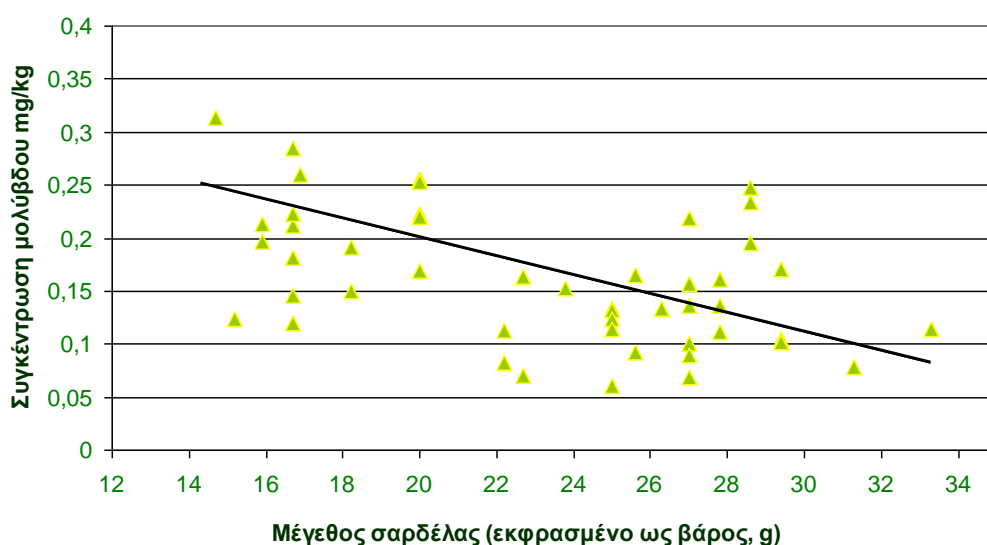
με το κάδμιο, ο μόλυβδος επηρεάστηκε σημαντικά από την εποχή αλίευσης ($F=3,395$, $P<0,05$). Η τάση του εν λόγω μετάλλου ήταν να αυξάνεται προς το τέλος του έτους, όπως ακριβώς παρατηρήθηκε και στο κάδμιο.

Συγκριτικά τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας με εκείνα άλλων σχετικών ερευνών, σε πρόσφατη μελέτη σε αλιεύματα σαρδέλας βρέθηκε ότι η ημερομηνία αλίευσης επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση του μολύβδου. Ο μόλυβδος παρουσίασε παρόμοια αυξητική τάση από το Σεπτέμβριο και μετά, η οποία συνεχίστηκε μέχρι τον Ιανουάριο και στη συνέχεια μειώθηκε. Όπως φαίνεται και στα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, υπάρχουν εποχικές διαφορές στα επίπεδα μολύβδου και μια αυξητική τάση προς το τέλος του έτους. Για αυτό τον λόγο συνιστάται, όπως και στο κάδμιο, η τακτική παρακολούθηση των επιπέδων των βαρέων μετάλλων καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η καλή ποιότητα των αλιευμάτων και η προστασία της ασφάλειας των καταναλωτών. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί στην παρακολούθηση των επιπέδων μολύβδου, καθώς φαίνεται ότι παρουσιάζει αυξητικές τάσεις και κατά περιόδους μπορεί να πλησιάσει το νομοθετικό όριο ασφαλείας των 0,3 mg/kg (σχήμα 14.4).



Σχήμα 14.4. Η επίδραση της ημερομηνίας αλίευσης στη συγκέντρωση του μολύβδου.

Ομοίως με το κάδμιο, η τρίτη παράμετρος που διερευνήθηκε ως παράγοντας επίδρασης της συγκέντρωσης του μολύβδου στη νωπή σαρδέλα ήταν το μέγεθος των αλιευμάτων. Στον πίνακα 14.4. δίνονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης. Αντίθετα με το κάδμιο, το μέγεθος των αλιευμάτων σαρδέλας επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση του μολύβδου ($F=3,682$, $P<0,05$). Η σχέση μεταξύ συγκέντρωσης μολύβδου και μεγέθους σαρδέλας βρέθηκε αντίστροφη, δηλαδή η συγκέντρωση του μολύβδου μειωνόταν, καθώς το μέγεθος των αλιευμάτων μεγάλωνε (σχήμα 14.5).



Σχήμα 14.5. Αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ συγκέντρωσης μολύβδου και μεγέθους της σαρδέλας του είδους *Sardinia pilchardus*.

Σχετικά με τη σύγκριση των δεδομένων της παρούσας μελέτης και προγενέστερων ερευνών, σε ορισμένα αλιευτικά είδη έχει καταγραφεί επίσης αντίστροφη συσχέτιση μεγέθους και συσσώρευσης βαρέων μετάλλων (Storelli and Marcotrigiano, 1999; Canli and Atli, 2003; Pierce et al., 2008). Η αντίστροφη συσχέτιση βαρέων μετάλλων και μεγέθους αποδίδεται σε διάφορους παράγοντες. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που μπορεί να επηρεάσει τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων στα αλιεύματα είναι η μεταβολική τους δραστηριότητα. Είναι επίσης γνωστό ότι στα μικρότερα αλιεύματα ο ρυθμός του μεταβολισμού είναι μεγαλύτερος, σε σχέση με τα μεγαλύτερα, καθώς βρίσκονται σε στάδιο ανάπτυξης. Για αυτό τον λόγο, τα μικρότερα είδη καταλήγουν με μεγαλύτερη συγκέντρωση βαρέων

μετάλλων, καθώς η καθαρή ποσότητα συσσώρευσης βαρέων μετάλλων σε έναν οργανισμό προκύπτει από τη διαφορά πρόσληψης και αποβολής. Για αυτό έχει παρατηρηθεί ότι σε ορισμένα αλιεύματα, η συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων σταθεροποιείται από μια ηλικία και μετά, καθώς επίσης και ο μεταβολισμός αποκτά σταθερό ρυθμό.

Εκτός από τον παράγοντα της μεταβολικής δραστηριότητας, σημαντικό ρόλο παίζει και το επίπεδο έκθεσης στα βαρέα μέταλλα. Έχει καταγραφεί ότι η υψηλή έκθεση σε τοξικά μέταλλα προκαλεί διάφορες παρενέργειες στους θαλάσσιους οργανισμούς που οδηγούν σε καθυστέρηση στην ανάπτυξη, προβλήματα στο μεταβολισμό και σε ζωτικά όργανα και σε περιπτώσεις οδηγεί στη θνησιμότητα. Τα μικρότερα σε ηλικία αλιεύματα που θα εκτεθούν σε υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων δε θα κατορθώσουν να φτάσουν σε ώριμη ηλικία, άρα όσα αλιεύματα εντοπίζονται σε μεγάλη ηλικία και μέγεθος πιθανόν να μην έχουν εκτεθεί σε υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων (Canli and Atli, 2003).

Επιπλέον, είναι γεγονός ότι κάποια είδη εκτίθενται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων σε μικρότερη ηλικία, καθώς ζουν κοντύτερα στις ακτές που είναι περισσότερο ρυπασμένες σε σχέση με το ανοιχτό πέλαγος, καθώς και διατρέφονται με είδη που πιθανότερα έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων (Storelli and Marcotrigiano 1999; Pierce et al. 2008). Επίσης έχει προαναφερθεί ότι τα επίπεδα των βαρέων μετάλλων μπορεί να σταθεροποιούνται σε ορισμένα είδη, μετά από κάποια ηλικία (Douben, 1989). Σε κάθε περίπτωση η σχέση συσσώρευσης βαρέων μετάλλων και μεγέθους αποτελεί ένα αρκετά σύνθετο φαινόμενο και τα ερευνητικά δεδομένα δεν έχουν αποδείξει μια ξεκάθαρη συσχέτιση (αντίστροφη ή θετική) συσσώρευσης και μεγέθους, εκτός από τον υδράργυρο (Storelli et al., 2010).

Η διαφορά της συμπεριφοράς του μολύβδου σε σχέση με το κάδμιο, στο οποίο δε βρέθηκε καμιά συσχέτιση μεταξύ μεγέθους και συγκέντρωσης καδμίου, αποδίδεται στη διαφορετική μεταβολική συμπεριφορά των δύο μετάλλων και σε διαφορές στο μηχανισμό συσσώρευσης και αποβολής των δύο βαρέων μετάλλων στον οργανισμό των αλιευμάτων. Στο μέλλον, μια περισσότερο εξειδικευμένη έρευνα στη φυσιολογία και συσσώρευση των βαρέων μετάλλων στα συγκεκριμένα αλιεύματα θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμη, καθώς θα έδινε

περισσότερο φως στους κυριότερους παράγοντες που μπορούν να εξηγήσουν τη σχέση μεγέθους και συσσώρευσης βαρέων μετάλλων.

Από τα αποτελέσματα της πειραματικής διεργασίας φάνηκε ότι, ομοίως με το κάδμιο, περισσότερο από μια ανεξάρτητες μεταβλητές μπορούν να επηρεάσουν τη συγκέντρωση του μολύβδου. Για αυτό τον λόγο διερευνήθηκε περαιτέρω, στατιστικά, η πιθανή αλληλεπίδραση των τριών ανεξάρτητων μεταβλητών (περιοχή-ημερομηνία-μέγεθος) και τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 14.4. Από τη συσχέτιση της αλληλεπίδρασης των ανεξάρτητων μεταβλητών φαίνεται ότι στον μόλυβδο, η ημερομηνία και το μέγεθος παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση ($F=5,023$, $P<0,05$). Το επίπεδο αλληλεπίδρασης των δύο μεταβλητών περιοχής-εποχής υπολογίστηκε στο 13,1% (Partial Eta Squared) και άρα το 13,1% της διασποράς του μολύβδου στη σαρδέλα οφείλεται στην αλληλεπίδραση της εποχής αλίευσης και στο μέγεθος των αλιευμάτων.

Η στατιστικά σημαντική τιμή της αλληλεπίδρασης ημερομηνίας-μέγεθους δηλώνει ότι η επίδραση της ημερομηνίας αλίευσης πάνω στη συγκέντρωση μολύβδου δεν είναι η ίδια για όλα τα μεγέθη σαρδέλας και επομένως, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη και οι δύο παράμετροι όταν εξετάζεται η συγκέντρωση μολύβδου στα αλιεύματα της σαρδέλας. Σχετικά με τα συμπεράσματα αλληλεπίδρασης ανεξάρτητων μεταβλητών στη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων, δεν υπάρχει σχετική αναφορά για τα αλιεύματα σαρδέλας, τονίζεται, όμως ότι τόσο η περιοχή, όσο το μέγεθος και η ημερομηνία αλίευσης αποτελούν σημαντικές παραμέτρους διακύμανσης των βαρέων μετάλλων και θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά τον πειραματικό σχεδιασμό παρόμοιων μελετών (Özden, 2013).

14.2 Γαύρος

14.2.1. Κάδμιο

Ο πίνακας 14.5. παρουσιάζει τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα σχετικά με τη συγκέντρωση του καδμίου στον νωπό γαύρο (πληθυσμός δειγματοληψίας N=50). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η συγκέντρωση του καδμίου στο γαύρο κυμάνθηκε σε αρκετά χαμηλά επίπεδα, από 0,006 ως 0,027 mg/kg. Ο μέσος όρος υπολογίστηκε στα $0,015 \pm 0,006$ mg/kg. Τα αποτελέσματα για το νωπό γαύρο δείχνουν ότι η συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα βρίσκεται σε αρκετά χαμηλά επίπεδα, καθώς καμιά τιμή δεν ξεπέρασε το νομοθετικό όριο των 0,3 mg/kg. Ο μέσος όρος των 0,015 mg/kg βρίσκεται 20 φορές χαμηλότερα από το ισχύον νομοθετικό όριο της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι οι τιμές του καδμίου βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα και επομένως οι γαύροι του είδους *Engraulis encrasicolus* των τριών αλιευτικών ζωνών της Ελλάδας που εξετάστηκαν (Θερμαϊκός - Χαλκιδική - Θρακικό πέλαγος) παρουσιάζουν χαμηλό κίνδυνο τοξικότητας.

Αντίθετα με τη σάρκα, το οστό συγκέντρωσε πολλαπλάσια ποσότητα καδμίου. Σύμφωνα με τα ερευνητικά αποτελέσματα, η μέση τιμή καδμίου στο γαύρο βρέθηκε στα $0,073 \pm 0,07$ mg/kg, ενώ οι τιμές στα δείγματα κυμάνθηκαν από 0,004 έως 0,264 mg/kg. Παρομοίως με τη σαρδέλα, η σύγκριση μεταξύ των δύο διαφορετικών ιστών σάρκας-οστού έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές ($F=29,75$, $P<0,05$), με το οστό να συγκεντρώνει σχεδόν πενταπλάσια ποσότητα καδμίου από τη σάρκα.

Ο πίνακας 14.5 δίνει τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, αλλά και προγενέστερα δημοσιευμένα αποτελέσματα σχετικά με τη συγκέντρωση καδμίου σε γαύρους που αλιεύτηκαν σε διάφορες περιοχές της Μεσογείου τα τελευταία 20 έτη. Από τα δεδομένα του πίνακα συμπεραίνεται ότι τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με προηγούμενα αποτελέσματα γαύρου της Ιταλίας- Αδριατικής θάλασσας (Desideri et al., 2010), των ανατολικών ακτών της Ισπανίας (Pastor et al., 1994), καθώς και της Μαύρης θάλασσας (Torcuoğlu et al. 2002). Παρόλα αυτά, σε ορισμένες μελέτες έχουν καταγραφεί χαμηλότερες συγκεντρώσεις καδμίου, όπως για παράδειγμα σε σαρδέλες της ελληνικής αγοράς (Kalogeropoulos et al., 2012) και της Καταλονίας-Ισπανίας (Marti-Cid et al., 2008). Αξιοσημείωτο είναι ότι οι

αλιευτικές ζώνες της Τουρκίας παρουσιάζουν συνεχώς σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις καδμίου, με συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 0,02 έως και 0,65 mg/kg, τιμή που ξεπερνά κατά δύο φορές το νομοθετικό όριο της ΕΕ (Çelik and Oehlenschläger, 2007; Türkmen et al. 2008; Tüzen, 2003; Tuzen, 2009; Uluozlu et al., 2007).

Όπως και στη σαρδέλα, οι διαφορές μεταξύ των αποτελεσμάτων αποδίδονται σε διάφορους περιβαλλοντικούς ή φυσιολογικούς παράγοντες, με έμφαση στο επίπεδο μόλυνσης των υδάτων της περιοχής αλίευσης, ενώ σημαντική παράμετρος θεωρείται και η εποχή αλίευσης.

Πίνακας 14.5. Συγκέντρωση καδμίου στο νωπό γαύρο (*Engraulis encrasicolus*) από έρευνες σε διάφορες αλιευτικές περιοχές της Μεσογείου, τα έτη 1993-2013.

<i>Τοποθεσία αλίευσης</i>	<i>Μέγεθος δείγματος (s)</i>	<i>Έτος αλίευσης</i>	<i>Συγκέντρωση Καδμίου (μέσος όρος ±τυπική απόκλιση, mg/kg)</i>	<i>Αναφορά</i>
Ελλάδα, Βόρειο Αιγαίο	50	2008/2009	0,015 ± 0,006	Παρούσα μελέτη
-Χαλκιδική	30	2008/2009	0,014 ± 0,003	Παρούσα μελέτη
-Θερμαϊκός κόλπος	10	2008/2009	0,015 ± 0,005	Παρούσα μελέτη
-Θρακικό πέλαγος	10	2008/2009	0,021 ± 0,003	Παρούσα μελέτη
Ιταλία, Αδριατική θάλασσα	5	2007/2008	0,12± 0,02	Desideri et al (2010)
Δυτική Μεσόγειος, Ισπανία	18	1993	0,01*	Pastor et al. (1994)
Μαύρη θάλασσα	24	1997/1998	<0,02-0,24*	Topcuoğlu et al. (2002)
Καταλονία, Ισπανία (αγορά)	4	2006	0,006	Marti-Cid et al. (2008)
Αθήνα, Ελλάδα (αγορά)	4	2011	0,007± 0,002	Kalogeropoulos et. al. (2013)
Τουρκία, αγορά	5	2004	0,492± 0,088	Çelik and Oehlenschläger (2007)
Τουρκία, διάφορες αλιευτικές ζώνες	---	2005	0,02-0,07	Türkmen et al. (2008)
Τουρκία, ακτές Μαύρης θάλασσας	10	2000/2001	0,18 ± 0,02*	Tüzen. (2003)
Τουρκία, ακτές Μαύρης θάλασσας	4	2008	0,27 ± 0,02	Tuzen. (2009)
Τουρκία, διάφορες αλιευτικές ζώνες	6	2005	0,65 ± 0,04*	Uluozlu et al. (2007)

Για να διερευνηθεί περαιτέρω η πιθανή επίδραση των παραμέτρων αλίευσης στη συγκέντρωση καδμίου, πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης για την επίδραση της περιοχής αλίευσης, της ημερομηνίας αλίευσης και του μεγέθους των αλιευμάτων. Στη συνέχεια, αξιολογήθηκε στατιστικά και η επίδραση του είδους του αλιεύματος (σαρδέλα-γαύρος) στη συγκέντρωση καδμίου.

Για τη διερεύνηση της επίδρασης της τοποθεσίας αλίευσης στη συγκέντρωση καδμίου εξετάστηκαν τρεις διαφορετικές αλιευτικές περιοχές του βορείου Αιγαίου, από τον Θερμαϊκό κόλπο (30 δείγματα), τη Χαλκιδική (10 δείγματα) και το Θρακικό πέλαγος (10 δείγματα). Τα αποτελέσματα της πειραματικής διεργασίας έδειξαν ότι μέσες τιμές καδμίου ήταν $0,015 \pm 0.005$ για το Θερμαϊκό, $0,014 \pm 0,003$ για τη Χαλκιδική και $0,021 \pm 0.003$ για το Θρακικό πέλαγος. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων με τη χρήση πολυπαραγοντικού σχεδίου ανάλυσης διακύμανσης- πολυμεταβλητής ανάλυσης (multivariate analysis) έδωσε τα αποτελέσματα του πίνακα 14.6.

Πίνακας 14.6. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για την επίδραση της περιοχής αλίευσης, της ημερομηνίας αλίευσης και του μεγέθους των αλιευμάτων γαύρου στη συγκέντρωση του καδμίου. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

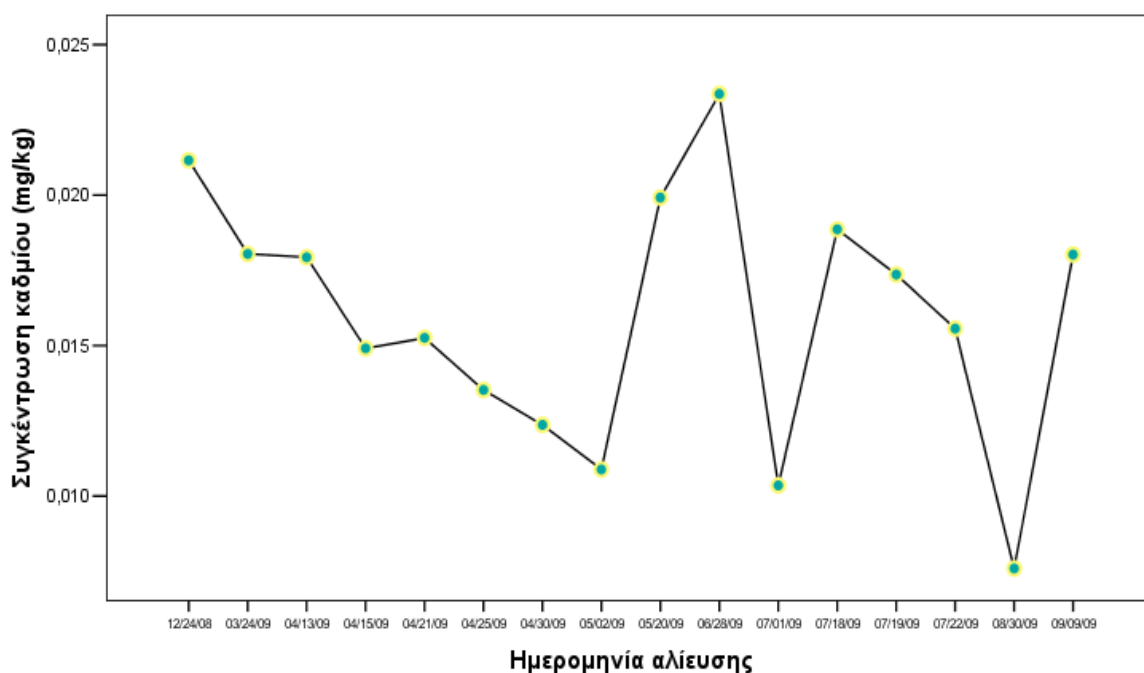
Ανεξάρτητη μεταβλητή	Εξαρτημένη μεταβλητή	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	Τιμή F	Sig. P
Περιοχή αλίευσης	Cd	0,0001	8	4,52E-005	2,840	0,021
Ημερομηνία αλίευσης	Cd	8,96E-006	4	2,24E-006	0,141	0,965
Μέγεθος	Cd	4,49E-005	1	4,49E-005	2,825	0,105
Περιοχή *	Cd	0,001	0	.	.	.
Ημερομηνία	Cd	0,000	0	.	.	.
Περιοχή *Μέγεθος	Cd	0,000	0	.	.	.
Ημερομηνία*	Cd	0,000	0	.	.	.
Μέγεθος	Cd	0,000	0	.	.	.
Περ.* Ημερ.*	Cd	0,000	0	.	.	.
Μέγεθος	Cd	0,000	26	1,59E-005		
Error	Cd	0,000	26	1,59E-005		
Total	Cd	0,014	50			
Corrected Total	Cd	0,001	49			

Όπως φαίνεται από τα δεδομένα του πίνακα 14.6, η περιοχή αλίευσης επέδρασε σημαντικά στη συγκέντρωση του καδμίου ($F=2,84$, $P<0,05$), όπως ακριβώς βρέθηκε και στα δείγματα σαρδέλας. Προχωρώντας στη στατιστική ανάλυση και μετά από εφαρμογή post hoc tests, για τη σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη και εφαρμόζοντας το κριτήριο Tukey test, βρέθηκε ότι ο Θερμαϊκός και η Χαλκιδική παρουσιάζουν παρόμοια επίπεδα καδμίου (διαφορά μη στατιστικά σημαντική), αλλά, αντίθετα, το Θρακικό πέλαγος παρουσιάζει αυξημένη συγκέντρωση καδμίου στα εξεταζόμενα δείγματα ($P<0,05$).

Η δεύτερη παράμετρος που εξετάστηκε ήταν η ημερομηνία αλίευσης. Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης δίνονται στον πίνακα 14.6. Από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι η ημερομηνία αλίευσης δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση καδμίου ($F=0,141$, $P>0,05$). Η διακύμανση της συγκέντρωσης καδμίου σε σχέση με την ημερομηνία αλίευσης δίνεται σχηματικά στο γράφημα 14.6. Όπως φαίνεται και από το γράφημα, η συγκέντρωση του καδμίου παρουσίασε αυξομειώσεις, ξεκινώντας από το τέλος του έτους με μια σχετικά υψηλή τιμή, μετά μια συνεχιζόμενη πτώση για τους επόμενους μήνες μέχρι τον Μάιο, στη συνέχεια παρουσίασε κάποιες αυξομειώσεις και τελικά άνοδο μετά τους θερινούς μήνες.

Παρόμοια συμπεριφορά σχετικά με τις υψηλότερες τιμές τους χειμερινούς μήνες είχε παρατηρηθεί και στο κάδμιο στη σαρδέλα, αλλά στο γαύρο δε μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα ως προς τον παράγοντα αυτό. Σε πρόσφατη μελέτη στο γαύρο του ίδιου είδους (Özden, 2013) βρέθηκε ότι η συγκέντρωση του καδμίου παρουσιάζει επίσης αυξομειώσεις στη διάρκεια του χρόνου, με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις τους χειμερινούς μήνες σε σχέση με το καλοκαίρι. Οι κύριες παράμετροι που μπορούν να εξηγήσουν τέτοιες διακυμάνσεις είναι η αλλαγή στην ποιότητα και χημικά χαρακτηριστικά του νερού, οι φυσιολογικές αλλαγές στους ίδιους τους οργανισμούς κατά τη διάρκεια του έτους, όπως για παράδειγμα είναι η αναλογία μεγαλύτερων και μικρότερων σε ηλικία ψαριών, οι αλλαγές στο επικρατέστερο φύλο του κοπαδιού, οι αλλαγές στο μέσο μέγεθος του κοπαδιού κ.α. (Özden 2013; Afonso et al. 2007). Βεβαίως, μελλοντικές μελέτες που θα επικεντρώνονται στην εποχική διακύμανση των βαρέων μετάλλων κρίνονται ιδιαίτερα χρήσιμες,

καθώς θα μπορούσαν να δώσουν περισσότερα στοιχεία πάνω στη μελέτη του παράγοντα αυτού. Δεδομένο πάντως είναι ότι παρατηρούνται διακυμάνσεις στα επίπεδα βαρέων μετάλλων κατά τη διάρκεια του έτους και άρα η τακτική παρακολούθηση των μετάλλων αυτών κρίνεται αναγκαία ιδιαίτερα για βαρέα μέταλλα που βρίσκονται κοντά στα όρια ασφαλείας προς κατανάλωση, καθώς τυχόν εποχικές διαφορές μπορούν να καθιστούν το ίδιο είδος αλιεύματος κατάλληλο ή μη προς κατανάλωση (Özden, 2013).

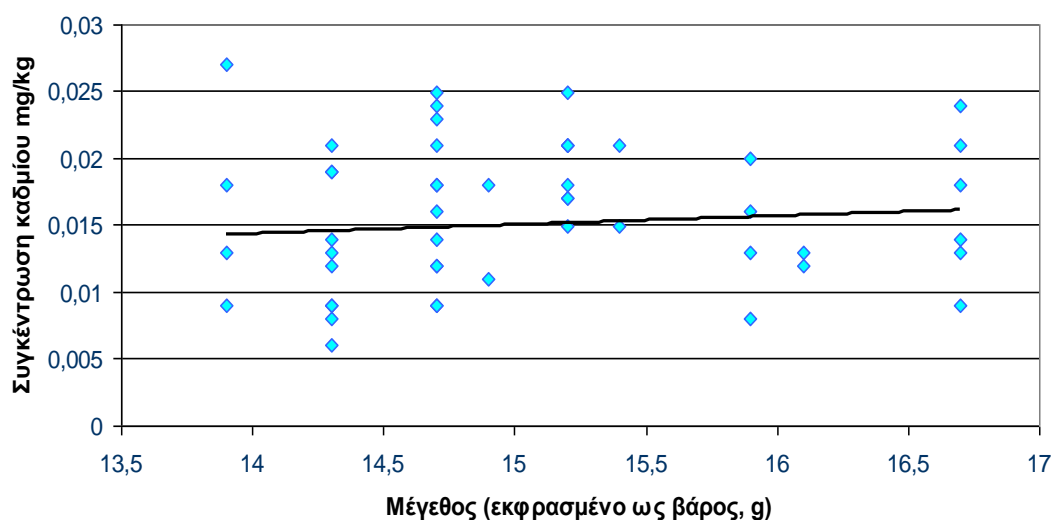


Σχήμα 14.6. Η επίδραση της ημερομηνίας αλίευσης στη συγκέντρωση του καδμίου στο γαύρο.

Ομοίως με τη σαρδέλα, η τρίτη παράμετρος που διερευνήθηκε ως παράγοντας επίδρασης της συγκέντρωσης του καδμίου ήταν το μέγεθος των αλιευμάτων. Στον πίνακα 14.6. φαίνονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης για τη μελέτη της επίδρασης του μεγέθους στη συγκέντρωση του καδμίου. Ομοίως και με τη σαρδέλα, το μέγεθος των αλιευμάτων δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση του καδμίου ($F=2,825$, $P>0,05$). Στο γράφημα 14.7. δίνεται σχηματικά η σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης καδμίου και μεγέθους στο γαύρο.

Σχετικά με τη σύγκριση των δεδομένων της μελέτης και προγενέστερων ερευνών πάνω στη σχέση μεγέθους και βαρέων μετάλλων στο γάυρο, τα αποτελέσματα της βιβλιογραφίας είναι σχετικά περιορισμένα. Σε σχετική έρευνα σε παρόμοια πελαγικά ψάρια, όπως είναι η αθερίνα και ο κέφαλος, δε βρέθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στη συγκέντρωση καδμίου και μεγέθους. Υποστηρίζεται ότι η συσσώρευση των τοξικών μετάλλων επηρεάζεται σημαντικά από το μεταβολικό ρυθμό και το περιβάλλον διαβίωσης, αλλά αποτελεί ένα αρκετά σύνθετο φαινόμενο που πρέπει να εξετάζεται συστηματικότερα σε *in vitro* συνθήκες και σε είδη, τα οποία μπορούν να αναπαραχθούν και να μεγαλώσουν σε ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες. Παρόλα αυτά, η συστηματική μελέτη της σχέσης σημαντικών μεταβλητών, όπως το μέγεθος, η περιοχή αλίευσης και η εποχή αλίευσης είναι απαραίτητη για την ορθή παρακολούθηση των επιπέδων βαρέων μετάλλων, καθώς δίνουν περισσότερα δεδομένα για την εκτίμηση της επικινδυνότητας των αλιευμάτων ως προς την κατανάλωσή τους (Canlı and Atli, 2003).

Καθώς δεν προέκυψαν περισσότεροι από ένας σημαντικός παράγοντας ως προς τη μεταβολή της συγκέντρωσης καδμίου δεν πραγματοποιήθηκε και στατιστική επεξεργασία ως προς τη μελέτη της αλληλεπίδρασης των σημαντικών παραγόντων του καδμίου στο γάυρο (πίνακας 14.6).



Σχήμα 14.7. Σχέση μεγέθους και συγκέντρωσης καδμίου στο γάυρο του είδους *Engraulis encrasicolus*.

14.2.2. Μόλυβδος.

Τα αποτελέσματα για τη συγκέντρωση του μολύβδου στο γαύρο δίνονται στον πίνακα 14.7. Συγκεντρωτικά, ο μολύβδος βρέθηκε ως μέσος όρος ίσος προς $0,105 \pm 0,04$ mg/kg. Οι τιμές του μολύβδου κυμάνθηκαν μεταξύ 0,037-0,237 mg/kg. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η συγκέντρωση του μολύβδου στις τρεις εξεταζόμενες περιοχές δειγματοληψίας (Χαλκιδική, Θερμαϊκός κόλπος, Θρακικό πέλαγος) βρίσκεται σε μέτριας επικινδυνότητας επίπεδα για τη δημόσια υγεία, καθώς ως μέσος όρος, ο μολύβδος βρέθηκε κάτω από $1/3$ του 0,3 mg/kg, ισχύοντος νομοθετικού ορίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Αξίζει να σημειωθεί ακόμα ότι κανένα δείγμα δεν ξεπέρασε το νομοθετικό όριο της Ε.Ε., ενώ η ανώτερη τιμή που σημειώθηκε ήταν 0,237 mg/kg. Επομένως, οι τιμές μολύβδου για το γαύρο της συγκεκριμένης δειγματοληψίας δείχνουν ότι τα αλιεύματα αυτά έχουν μέτρια συγκέντρωση μολύβδου, η οποία δεν ξεπερνά τα νομοθετικά όρια, απαιτεί όμως, όπως και στην περίπτωση της σαρδέλας, τακτική παρακολούθηση, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η προστασία της υγείας των καταναλωτών.

Τα αποτελέσματα για το οστό του γαύρου έδειξαν ότι συγκέντρωσε πολλαπλάσια ποσότητα μολύβδου από τη σάρκα. Πιο συγκεκριμένα, το οστό του γαύρου έδωσε τιμές από 0,13 έως 1,95 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,85 \pm 0,4$ mg/kg. Η στατιστική ανάλυση μεταξύ των δύο ιστών έδωσε σημαντικές διαφορές ($F=170,2$, $P<0,05$) με το οστό να συγκεντρώνει έως και 8 φορές περισσότερο μολύβδο από τη σάρκα. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μέγιστη τιμή ξεπέρασε 6,5 φορές το ευρωπαϊκό νομοθετικό όριο των 0,3 mg/kg.

Ο πίνακας 14.7 δίνει τα ερευνητικά δεδομένα της παρούσας μελέτης και προγενέστερα αποτελέσματα σχετικά με τη συγκέντρωση μολύβδου τα τελευταία 20 έτη σε γαύρους της Μεσογείου. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με πρόσφατα αποτελέσματα συγκέντρωσης μολύβδου από την αγορά της Τουρκίας (Özden, 2013), καθώς και προηγούμενης μελέτης σε γαύρους που αλιεύτηκαν στη βορειοανατολική Μαύρη θάλασσα (Türkmen et al., 2008). Σε παλαιότερες μελέτες έχουν καταγραφεί υψηλότερες συγκεντρώσεις μολύβδου, όπως για παράδειγμα σε γαύρους αλιευμένους στη δυτική Μεσόγειο, στη Μαύρη θάλασσα άλλα και στις Τουρκικές ακτές (Pastor et al., 1994; Torcuoglu et al. 2002; Tüzen, 2003). Αντίθετα, σε πρόσφατη μελέτη

στην ελληνική αγορά έχουν καταγραφεί σημαντικά μικρότερες συγκεντρώσεις από τις προαναφερθείσες μελέτες (Kalogeropoulos et al., 2012).

Παρομοίως με τη σαρδέλα, ο μόλυβδος παρουσίασε σημαντικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από το κάδμιο στα ίδια δείγματα γαύρου ($P < 0,05$). Η παρατήρηση αυτή είναι σε συμφωνία με προγενέστερα αποτελέσματα μεταξύ καδμίου και μολύβδου του ίδιου αλιεύματος (Pastor et al., 1994; Canli and Atli, 2003; Türkmen et al., 2008; Tuzen, 2009). Η διαφορά της συγκέντρωσης των δύο μετάλλων οφείλεται, όπως προαναφέρθηκε στο επίπεδο ρύπανσης των υδάτων στα δύο μέταλλα, καθώς και σε διαφορές στον τρόπο διαβίωσης, μεταβολισμού και διαχείρισης των δύο μετάλλων από τους οργανισμούς των αλιευμάτων.

Η στατιστική ανάλυση σχετικά με τη σύγκριση των συγκεντρώσεων μολύβδου στον γάυρο σε σχέση με τη σαρδέλα έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ειδών, με τη σαρδέλα να συγκεντρώνει υψηλότερες συγκεντρώσεις μολύβδου από το γάυρο ($F=38,88$, $P < 0,05$). Η διαφορά αποδίδεται, κυρίως στη διαφορετική εποχή και σημεία αλίευσης των δύο ειδών, αλλά και στη διαφορετική φυσιολογία μεταξύ των δύο οργανισμών.

Πίνακας 14.7. Συγκέντρωση μολύβδου στο νωπό γαύρο (*Engraulis engrasicolus*) από έρευνες σε διάφορες αλιευτικές περιοχές της Μεσογείου, τ έτη 1993-2013. *μέτρηση σε δείγματα ξηρού βάρους (dry weight sample)

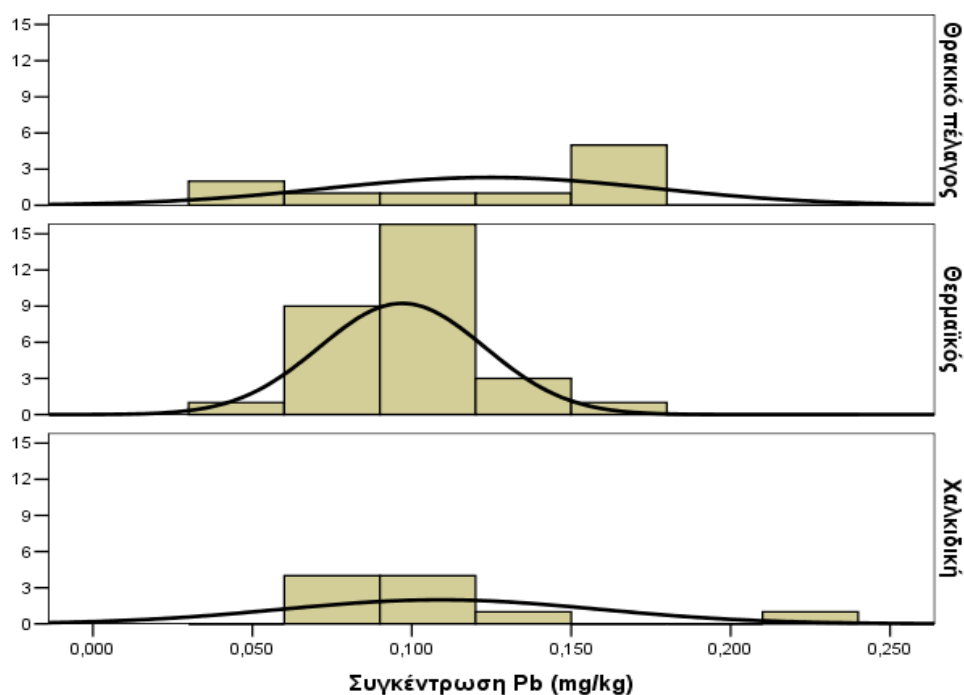
<i>Τοποθεσία αλίευσης</i>	<i>Μέγεθος δείγματος (s)</i>	<i>Έτος αλίευσης</i>	<i>Μολύβδος (μέσος όρος ±τυπική απόκλιση, mg/kg)</i>	<i>Αναφορά</i>
Ελλάδα, Βόρειο Αιγαίο	50	2008/2009	0,105 ± 0,04	Παρούσα μελέτη
-Χαλκιδική	30	2008/2009	0,109 ± 0,05	Παρούσα μελέτη
-Θερμαϊκός κόλπος	10	2008/2009	0,097 ± 0,03	Παρούσα μελέτη
-Θρακικό πέλαγος	10	2008/2009	0,124 ± 0,05	Παρούσα μελέτη
Δυτική Μεσόγειος, Ισπανία	18	1993	0,543*	Pastor et al. (1994)
Μαύρη θάλασσα	24	1997/1998	<0,05-0,6	Topcuoğlu et al. (2002)
Καταλονία, Ισπανία (αγορά)	4	2006	0,01 - 0,08	Falcó et al (2006)
Αθήνα, Ελλάδα (αγορά)	4	2011	0,007± 0,002	Kalogeropoulos et. al. (2013)
Τουρκία, αγορά	5	2007	0,006 ± 0,04	Oymak et al. (2009)
Τουρκία, διάφορες αλιευτικές ζώνες	---	2005	0,12-0,87	Türkmen et al. (2008)
Τουρκία, ακτές Μαύρης θάλασσας	10	2000/2001	0,39 ± 0,07*	Tüzen. (2003)
Τουρκία, ακτές Μαύρης θάλασσας	4	2008	0,3 ± 0,02	Tuzen. (2009)
Τουρκία, διάφορες αλιευτικές ζώνες	6	2005	0,33 ± 0,01*	Uluozlu et al. (2007)

Ομοίως και με τα αποτελέσματα του καδμίου, για τη διερεύνηση πιθανών παραγόντων που επηρεάζουν τη συγκέντρωση μολύβδου στο γάυρο πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση για τη μελέτη της πιθανότητας επίδρασης της τοποθεσίας αλίευσης, της ημερομηνίας αλίευσης και του μεγέθους στη συγκέντρωση του μολύβδου. Σημειώνεται ότι τα δείγματα γάυρου αλιεύτηκαν από τρεις διαφορετικές ζώνες του Βορείου Αιγαίου, τον Θερμαϊκό κόλπο (N=30), τη Χαλκιδική (N=10) και το Θρακικό πέλαγος (N=10). Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 14.8. Για τις τρεις περιοχές αλίευσης οι μέσες τιμές ήταν $0,109 \pm 0,05$, $0,097 \pm 0,03$ και $0,124 \pm 0,05$ για τη Χαλκιδική, το Θερμαϊκό κόλπο και το Θρακικό πέλαγος αντίστοιχα. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση πολυπαραγοντικού σχεδίου ανάλυσης διακύμανσης- πολυμεταβλητής ανάλυσης (multivariate analysis) και δίνεται στον πίνακα 14.8.

Πίνακας 14.8. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για την επίδραση της περιοχής αλίευσης, της ημερομηνίας αλίευσης και του μεγέθους των αλιευμάτων γάυρου στην συγκέντρωση του μολύβδου. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Ανεξάρτητη μεταβλητή	Εξαρτημένη μεταβλητή	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	Τιμή F	Sig. P
Περιοχή αλίευσης	Pb	0,006	1	0,002	5,793	0,023
Ημερομηνία αλίευσης	Pb	0,017	8	0,475	1,929	0,098
Μέγεθος	Pb	0,005	4	0,006	1,040	0,406
Περιοχή *	Pb	0,000	0	0,002	.	.
Ημερομηνία	Pb	0,000	0	0,001	.	.
Περιοχή *Μέγεθος	Pb	0,000	0	.	.	.
Ημερομηνία*	Pb	0,000	0	.	.	.
Μέγεθος	Pb	0,000	0	.	.	.
Περ.* Ημερ.*	Pb	0,000	0	.	.	.
Μέγεθος	Pb	0,029	26	.	.	.
Error	Pb	0,029	26	.	.	.
Total	Pb	0,622	50	.	.	.
Corrected Total	Pb	0,072	49	0,001	.	.

Όπως φαίνεται και από τα δεδομένα του πίνακα 14.8, η περιοχή αλίευσης επέδρασε σημαντικά στη συγκέντρωση μολύβδου ($F= 5,793$, $P<0,05$). Η περαιτέρω στατιστική ανάλυση συγκρίσεων ανά ζεύγη (Pairwise Comparisons) έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων της Χαλκιδικής και του Θερμαϊκού κόλπου, αλλά αντίθετα τα αλιεύματα γαύρου του Θρακικού κόλπου είναι περισσότερο επιβαρυνμένα με μόλυβδο, σε σχέση με τις δύο άλλες αλιευτικές ζώνες (σχήμα 14.2.2.2). Η αυξημένη συγκέντρωση μολύβδου των αλιευμάτων γαύρου του Θρακικού πελάγους πιθανώς να οφείλεται στην εκροή αποβλήτων που καταλήγουν στον ποταμό Έβρο, ενώ και η παρουσία του εγκαταλειμμένου μεταλλείου μολύβδου-ψευδαργύρου στην περιοχή της Κίρκης του νομού Έβρου μπορεί να είναι ένας πρόσθετος παράγοντας επιβάρυνσης των υδάτων του Θρακικού πελάγους με μόλυβδο. Προηγούμενες σχετικές μελέτες πάνω στον γαύρο είναι περιορισμένες, παρόλα αυτά φαίνεται ότι δείγματα που αλιεύονται από περιοχές αυξημένης ρύπανσης εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις μολύβδου, όπως παρατηρήθηκε σε δείγματα αλιευμένα σε διαφορετικές περιοχές της Μαύρης θάλασσας, όπου οι πιο επιβαρυνμένες περιοχές εμφάνισαν αυξημένες συγκεντρώσεις μολύβδου (Torcuoglu et al. 2002).

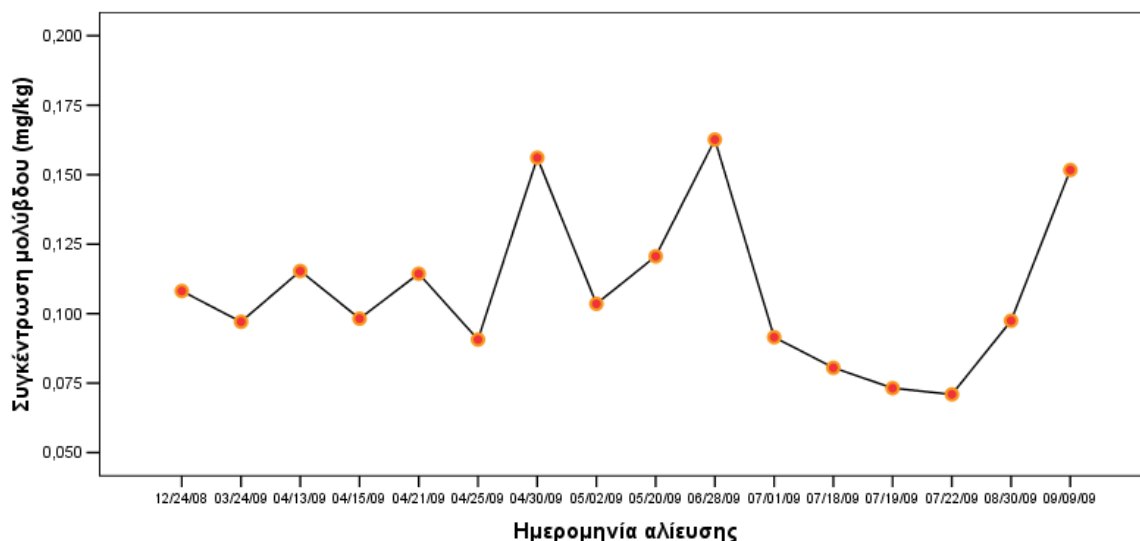


Σχήμα 14.8. Η επίδραση της περιοχής αλίευσης στη συγκέντρωση του μολύβδου στο γαύρο του είδους *Engraulis encrasicolus*. Οι τιμές είναι σε mg/kg.

Η δεύτερη παράμετρος που εξετάστηκε ως προς την πιθανή επίδρασή της στη συγκέντρωση μολύβδου ήταν η ημερομηνία αλίευσης. Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης δίνονται στον πίνακα 14.8. Από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι η ημερομηνία αλίευσης δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση μολύβδου ($F=1,929$, $P>0,05$), όπως ακριβώς παρατηρήθηκε και στο κάδμιο. Η διακύμανση της συγκέντρωσης μολύβδου και της ημερομηνίας αλίευσης των δειγμάτων δίνεται σχηματικά στο γράφημα 14.9. Όπως φαίνεται και από το γράφημα, η συγκέντρωση του μολύβδου ήταν σχετικά σταθερή το διάστημα από το τέλος του έτους μέχρι τον Μάιο, ενώ στη συνέχεια και για τους θερινούς μήνες παρουσίασε μια σταδιακή πτώση και τελικά άνοδο το φθινόπωρο.

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας είναι σε συμφωνία με πρόσφατη έρευνα σχετικά με τη σχέση ημερομηνίας αλίευσης και συγκέντρωσης μολύβδου σε γαύρο του ίδιου είδους, στην οποία επίσης δεν έχει παρατηρηθεί σημαντική επίδραση της ημερομηνίας αλίευσης στη συγκέντρωση μολύβδου σε δείγματα γαύρου της Τουρκίας, τα οποία μελετήθηκαν με συνεχείς δειγματοληψίες σε μηνιαία βάση για ένα ολόκληρο έτος (Özden, 2013). Σε προγενέστερη μελέτη σε γαύρο του ίδιου είδους αλιευμένο στη Μαύρη θάλασσα, δεν παρατηρήθηκε επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων που αλιεύτηκαν στο ίδιο σημείο, σε δύο διαφορετικά έτη αλίευσης (Torcuoğlu et al., 2002).

Η τρίτη παράμετρος που διερευνήθηκε στο νωπό γαύρο είναι το μέγεθος των αλιευμάτων. Στον πίνακα 14.8. φαίνονται τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, από τα οποία φαίνεται ότι η συγκέντρωση του μολύβδου δεν επηρεάστηκε σημαντικά από το μέγεθος των αλιευμάτων ($F=1,040$, $P>0,05$).



Σχήμα 14.9. Σχέση ημερομηνίας αλίευσης και συγκέντρωση του μολύβδου στο γαύρο. Οι τιμές είναι σε mg/kg.

Σχετικά με τη σύγκριση των δεδομένων της μελέτης και προγενέστερων ερευνών πάνω στη σχέση μεγέθους και βαρέων μετάλλων στο γαύρο, τα αποτελέσματα της βιβλιογραφίας είναι αρκετά περιορισμένα. Σε σχετική έρευνα σε μικρά πελαγικά ψάρια (χωρίς να συμπεριλαμβάνεται ο γαύρος) δεν εντοπίστηκε σημαντική επίδραση του μεγέθους στη σάρκα των περισσότερων ψαριών που εξετάστηκαν (Canli and Atli, 2003). Περισσότερα επιστημονικά δεδομένα πάνω στη σχέση συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων και μεγέθους αλιευμάτων θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμα, καθώς μπορούν να δώσουν απαραίτητες πληροφορίες για την καταλληλότητα των αλιευμάτων σε διαφορετικά εμπορικά μεγέθη αλίευσης.

Κεφάλαιο 15. Η επίδραση της επεξεργασίας στα ψάρια

15.1 Σαρδέλα

15.1.1. Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου

Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου μελετήθηκε στα ίδια δείγματα των νωπών αλιευμάτων, με την εφαρμογή της επεξεργασίας (α) ψησίματος και (β) βιομηχανικής κονσερβοποίησης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά την εφαρμογή της επεξεργασίας του ψησίματος, η συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα της σαρδέλας κυμάνθηκε από 0,005 μέχρι 0,026 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,013 \pm 0,05$ mg/kg.

Τα αποτελέσματα για το οστό της ψημένης σαρδέλας έδειξαν ότι μετά το ψήσιμο η συγκέντρωση του καδμίου κυμάνθηκε από 0,013 έως 0,111 mg/kg, με μέσο όρο τα 0,046 mg/kg. Η στατιστική ανάλυση για τη σύγκριση των δύο διαφορετικών ιστών έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση του καδμίου των δύο ιστών ($F=54,545$, $P<0,05$), με το οστό να συγκεντρώνει 3,5 φορές περισσότερο κάδμιο από τη σάρκα του ψαριού στο ψημένο ψάρι.

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το κάδμιο στην ψημένη σαρδέλα βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα, καθώς ο μέσος όρος των 0,013 mg/kg βρίσκεται αρκετά χαμηλότερα από το ισχύον νομοθετικό όριο της Ευρωπαϊκής Ένωσης (0,3 mg/kg), οπότε συμπεραίνεται ότι δε υπάρχει σοβαρός κίνδυνος τοξικότητας καδμίου. Σχετικά με προγενέστερα δεδομένα για ψάρια που έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με πρόσφατο πείραμα σε σαρδέλες του ίδιου είδους (Kalogeropoulos et al., 2012) με μέσο όρο τιμών $0,012 \pm 0,06$ mg/kg, η τιμή του οποίου είναι πολύ κοντά στον μέσο όρο της παρούσας μελέτης. Μια προγενέστερη έρευνα πάνω στο ίδιο είδος κατέγραψε χαμηλότερες τιμές καδμίου, με μέσο όρο τα 0,002 mg/kg σε τηγανισμένο και ψημένο ψάρι, χρησιμοποιώντας όμως πρώτη ύλη με χαμηλότερες συγκεντρώσεις καδμίου (Perelló et al., 2008).

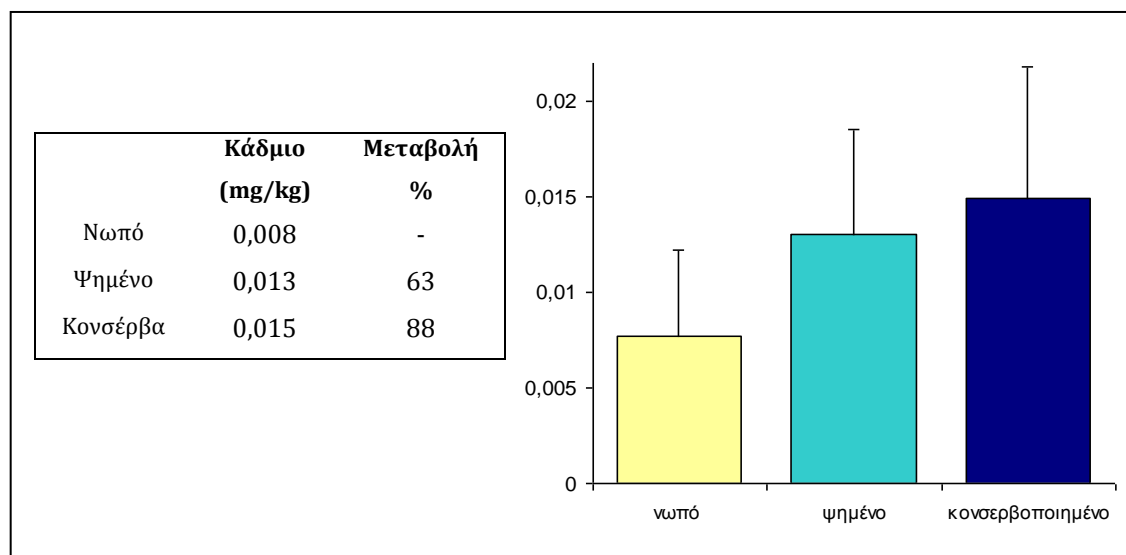
Σχετικά με την εφαρμογή της επεξεργασίας κονσερβοποίησης, η συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα της σαρδέλας κυμάνθηκε από 0,007 μέχρι 0,030 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,015 \pm 0,08$ mg/kg.

Τα αποτελέσματα για το οστό της κονσερβοποιημένης σαρδέλας έδειξαν ότι μετά τη κονσερβοποίηση η συγκέντρωση του καδμίου κυμάνθηκε από 0,09 έως 0,133 mg/kg, με μέσο όρο τα 0,051 mg/kg. Η στατιστική ανάλυση για τη σύγκριση των δύο διαφορετικών ιστών στο κονσερβοποιημένο προϊόν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση του καδμίου των δύο ιστών ($F=53,43$, $P<0,05$), με το οστό να συγκεντρώνει 4,5 φορές περισσότερο κάδμιο από τη σάρκα του ψαριού.

Τα δεδομένα για τη συγκέντρωση καδμίου σε κονσερβοποιημένο προϊόν δείχνουν ότι ο μέσος όρος των 0,015 mg/kg είναι αρκετά μειωμένος σε σχέση με το νομοθετικό όριο της Ευρωπαϊκής Ένωσης (0,3 mg/kg), οπότε σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτά, η κατανάλωση κονσερβοποιημένης σαρδέλας δε συντρέχει κίνδυνο τοξικότητας από κάδμιο. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης, σε σχέση με άλλα ερευνητικά δεδομένα για κονσερβοποιημένα ψάρια, έδειξε ότι αυτά είναι παρόμοια με αποτελέσματα σε κονσερβοποιημένες σαρδέλες που αλιεύτηκαν στη Νορβηγία με μέσο όρο τιμών τα 0,02 mg/kg (Shiber, 2011), σε κονσερβοποιημένες σαρδέλες της αγοράς της Τουρκίας (Tuzen and Soyak, 2007) και της Νιγηρίας (Iwegbue et al. 2009). Σε διαφορετικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε κονσερβοποιημένα ψάρια της Σαουδικής Αραβίας (Ashraf et al., 2006) και της Βραζιλίας (Tarley et al., 2001) καταγράφηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις καδμίου με τιμές που κυμαίνονταν μεταξύ 0,19-0,38 mg/kg. Οι διαφορετικές τιμές αποδίδονται σε αναλυτικές διαφορές, καθώς σε αυτές τις μελέτες οι μετρήσεις έγιναν σε δείγματα ξηρού βάρους, αλλά και πιθανώς σε διαφορές στα αρχικά επίπεδα της πρώτης ύλης που χρησιμοποιήθηκε για κονσερβοποίηση.

Στο σχήμα 15.1. δίνεται η συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα της σαρδέλας πριν και μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Όπως φαίνεται σχηματικά, αλλά και από τα ποσοστά μεταβολής του μέσου όρου, η συγκέντρωση του καδμίου αυξήθηκε, τόσο κατά την εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας, όσο και κατά την κονσερβοποίηση. Για να διερευνηθεί ο βαθμός επίδρασης της επεξεργασίας του ψησίματος και της κονσερβοποίησης,

πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση με χρήση πολυπαραγοντικού σχεδίου ανάλυσης διακύμανσης- πολυμεταβλητής ανάλυσης (multivariate analysis) και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 15.1.



Σχήμα 15.1. Μεταβολή της συγκέντρωσης του καδμίου στη σάρκα της σαρδέλας μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους (mg/kg).

Από την ανάλυση διακύμανσης συμπεραίνεται ότι η εφαρμογή της επεξεργασίας επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση του καδμίου ($F=19,00$, $P<0,05$). Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα της σαρδέλας αυξήθηκε κατά 63% μετά την εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας και 88% μετά την εφαρμογή της κονσερβοποίησης. Η σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη έδειξε μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο μορφές επεξεργασίας, γεγονός που δηλώνει ότι ο βαθμός επίδρασης των δύο τύπων επεξεργασίας ήταν παρόμοιος.

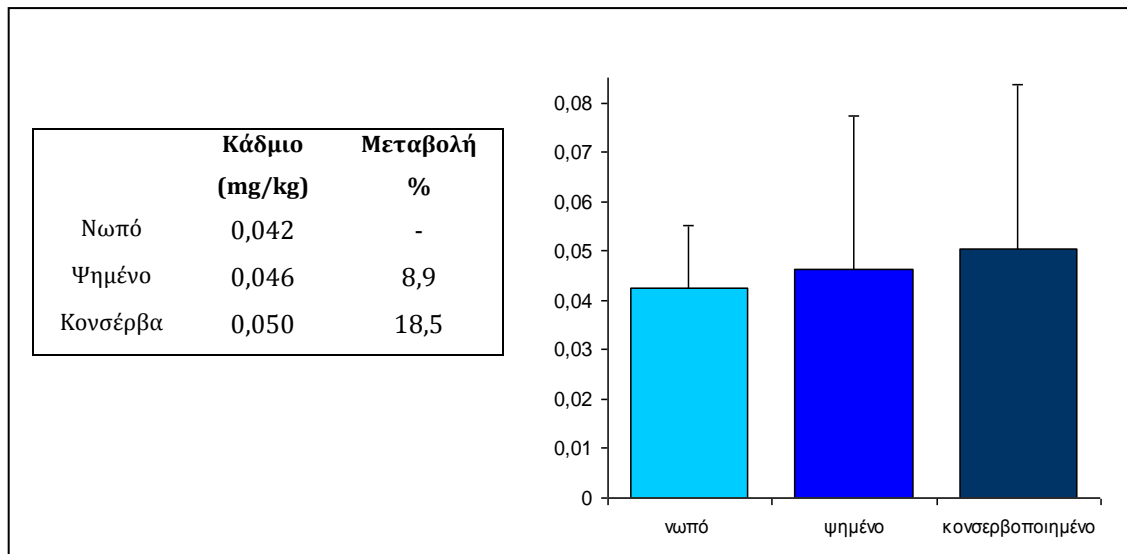
Πίνακας 15.1. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης (α) για την επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα της σαρδέλας και (β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών τύπων επεξεργασίας. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

(α) Ανάλυση διακύμανσης -ANOVA					
	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντικότητα P
Επεξεργασία	0,001	2	0,001	19,010	0,000
Error	0,005	147	3,64E-005		
Total	0,028	150			
Corrected Total	0,007	149			

(β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (Post Hoc test)				
(I) επεξεργασία	(J) επεξεργασία	Διαφορά μέσων όρων	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα P
νωπό	ψημένο	-0,00532	0,001206	0,000
	κονσερβοποιημένο	-0,00716	0,001206	0,000
ψημένο	νωπό	0,00532	0,001206	0,000
	κονσερβοποιημένο	-0,00184	0,001206	0,282
κονσερβοποιημένο	νωπό	0,00716	0,001206	0,000
	ψημένο	0,00184	0,001206	0,282

Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι και οι δύο τύποι επεξεργασίας μπορούν να επηρεάσουν τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων και μάλιστα να προκαλέσουν σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων στο τελικό προϊόν, η οποία στην περίπτωση του καδμίου στη σάρκα ήταν 63% για το ψήσιμο και 87% για την κονσερβοποίηση.

Στη συνέχεια της πειραματικής μελέτης εξετάστηκε και η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου στο οστό της σαρδέλας και τα αποτελέσματα δίνονται στο σχήμα 15.2. Παρομοίως με τη σάρκα της σαρδέλας, η συγκέντρωση του καδμίου στο οστό αυξήθηκε κατά την εφαρμογή των δύο τύπων επεξεργασίας. Για να διερευνηθεί ο βαθμός επίδρασης της επεξεργασίας του ψησίματος και της κονσερβοποίησης, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 15.2.



Σχήμα 15.2. Μεταβολή της συγκέντρωσης του καδμίου (mg/kg) στο οστό της σαρδέλας μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους.

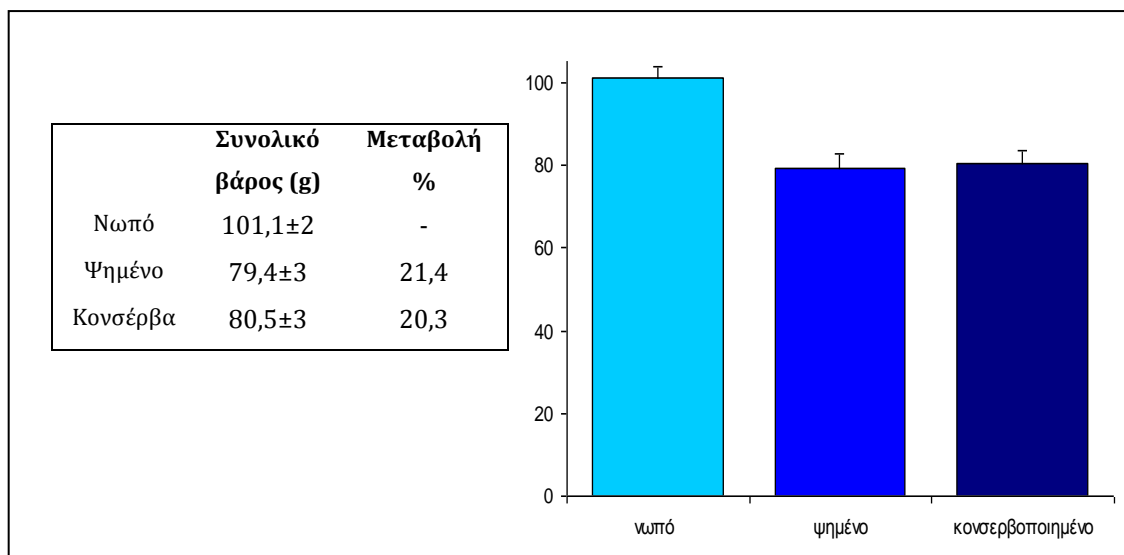
Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι παρόλο που καταγράφηκε αυξητική τάση μετά την επεξεργασία του ψαριού (8,9% στο ψήσιμο και 18,5% στη κονσερβοποίηση), η αύξηση αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($F=1,018$, $P>0,05$). Επιπλέον, η ανάλυση διακύμανσης ανά ζεύγη έδειξε ότι δεν υπάρχει καμιά στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στο νωπό, το θερμικά επεξεργασμένο και το κονσερβοποιημένο οστό. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι ο βαθμός επίδρασης της ίδιας επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου μπορεί να διαφέρει, ανάλογα με το είδος του ιστού και πιθανώς να σχετίζεται με τη διαφορετική χημική σύσταση του κάθε ιστού του ψαριού (σάρκα, οστό).

Πίνακας 15.2. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης (α) για την επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου στο οστό της σαρδέλας και (β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών τύπων επεξεργασίας. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

(α) Ανάλυση διακύμανσης -ANOVA					
	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντικότητα
Επεξεργασία	0,002	2	0,001	1,018	0,364
Error	0,111	147	0,001		
Total	0,434	150			
Corrected Total	0,113	149			

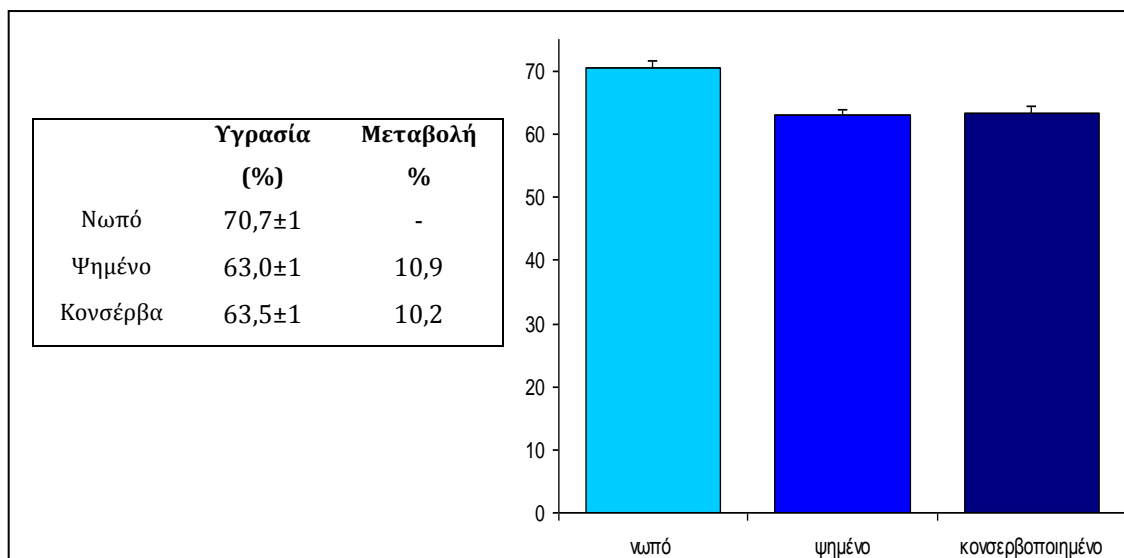
(β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (Post Hoc test)				
(I) επεξεργασία	(J) επεξεργασία	Διαφορά μέσων όρων	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα
νωπό	ψημένο	-0,004	0,005	0,495
	κονσερβοποιημένο	-0,008	0,005	0,156
ψημένο	νωπό	0,004	0,005	0,495
	κονσερβοποιημένο	-0,004	0,005	0,459
κονσερβοποιημένο	νωπό	0,008	0,005	0,156
	ψημένο	0,004	0,005	0,459

Η σύγκριση της επίδρασης της κάθε επεξεργασίας στη σάρκα του ψαριού έδειξε ότι η σημαντικότερη επίδραση της επεξεργασίας στα επίπεδα του καδμίου προήλθε μετά τη θερμική επεξεργασία του ψησίματος, η οποία αποτελεί και ένα ενδιάμεσο στάδιο επεξεργασίας στη βιομηχανική κονσερβοποίηση. Είναι γνωστό ότι η εφαρμογή θέρμανσης στα τρόφιμα που περιέχουν υγρασία, στα οποία περιλαμβάνονται και τα ψάρια, προκαλεί απώλεια υγρασίας και άλλων πτητικών συστατικών του προϊόντος. Για να διερευνηθεί η πιθανή σχέση μεταξύ απώλειας υγρασίας και άλλων συστατικών του προϊόντος, έγινε καταμέτρηση του βάρους του κάθε δείγματος πριν και μετά την εφαρμογή (α) του ψησίματος και (β) της κονσερβοποίησης. Τα αποτελέσματα δίνονται στο σχήμα 15.3.



Σχήμα 15.3. Μεταβολή του βάρους (g) της σαρδέλας (σάρκα) πριν και μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Το βάρος δίνεται σε γραμμάρια (g). Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους.

Όπως φαίνεται από τα δεδομένα του σχήματος, το βάρος της σαρδέλας μειώθηκε κατά 21,4% μετά την επεξεργασία της θέρμανσης με ψήσιμο και 20,3% μετά την επεξεργασία της κονσερβοποίησης. Η απώλεια βάρους κατά την εφαρμογή μεθόδων μεταποίησης αλιευμάτων έχει καταγραφεί σε αρκετές ερευνητικές μελέτες. Ως κύρια παράμετρος μείωσης του βάρους κατά την επεξεργασία αναφέρεται η απώλεια υγρασίας, η οποία αποτελεί το κύριο συστατικό της σάρκας των ψαριών. Άλλα συστατικά που μειώνονται κατά την επεξεργασία του ψησίματος και της κονσερβοποίησης είναι πτητικά λιπαρά οξέα, καθώς και άλλα πτητικά συστατικά. Για να καταγραφεί το ποσοστό απώλειας της υγρασίας, πραγματοποιήθηκε μέτρηση της συνολικής υγρασίας στα ίδια δείγματα που έγινε η μέτρηση της συγκέντρωσης του καδμίου και του συνολικού βάρους και τα αποτελέσματα δίνονται στο σχήμα 15.4.



Σχήμα 15.4. Μεταβολή της περιεχόμενης υγρασίας (%) των δειγμάτων της σαρδέλας (σάρκα) πριν και μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους.

Όπως φαίνεται και από το γράφημα, η υγρασία σημείωσε μείωση κατά την επεξεργασία της θέρμανσης και κατά την κονσερβοποίηση. Το ποσοστό απώλειας της υγρασίας κυμάνθηκε στο 10,9% κατά μέσο όρο στο ψήσιμο. Το ποσοστό απώλειας στα κονσερβοποιημένα προϊόντα ήταν 10,2%. Σε σύγκριση με το ψήσιμο, τα κονσερβοποιημένα δείγματα δεν έδειξαν περαιτέρω απώλεια υγρασίας, γεγονός το οποίο αποδίδεται στο ερμητικό κλείσιμο των περιεκτών και στην πλήρωση των περιεκτών με φυτικό έλαιο, έτσι ώστε να μην είναι δυνατή η περαιτέρω απώλεια υγρασίας.

Για να αξιολογηθεί στατιστικά η επίδραση της επεξεργασίας στο βάρος και στην υγρασία πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 15.3. Όπως φαίνεται από τα δεδομένα, το βάρος και η υγρασία επηρεάστηκαν σημαντικά από την επεξεργασία των αλιευμάτων ($F_{\text{βάρος}}=786,885$, $P<0,05$ και $F_{\text{υγρασία}}=1036,710$, $P<0,05$). Η σύγκριση κατά ζεύγη μεταξύ των διαφορετικών μορφών επεξεργασίας δεν έδωσε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του ψησίματος και της κονσερβοποίησης ($P>0,05$), γεγονός από το οποίο συμπεραίνεται ότι τόσο το βάρος, όσο και η υγρασία μεταβλήθηκαν σημαντικά στο στάδιο του ψησίματος. Οι σημαντικές μεταβολές στο βάρος και στην υγρασία πραγματοποιήθηκαν μεταξύ του νωπού και του ψημένου ψαριού, παρατήρηση που έρχεται σε συμφωνία με τη συμπεριφορά του καδμίου κατά την εφαρμογή της ίδιας επεξεργασίας.

Πίνακας 15.3. (α) ανάλυση διακύμανσης για την επίδραση της επεξεργασίας στο βάρος και στην υγρασία και (β) σύγκριση κατά ζεύγη-Tukey test.

(α) Ανάλυση της διακύμανσης - ANOVA							
Πηγή διακύμανσης	Εξαρτημένη μεταβλητή	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	P	Βαθμός αλληλεπίδρασης
Επεξεργασία	βάρος	14816,815	2	7408,407	786,885	0,000	0,915
	υγρασία	1854,383	2	927,191	1036,710	0,000	0,934
Error	βάρος	1383,984	147	9,415			
	υγρασία	131,471	147	0,894			
Total	βάρος	1150416,603	150				
	υγρασία	649932,480	150				
Cor. Total	βάρος	16200,799	149				
	υγρασία	1985,854	149				

(β) Σύγκριση κατά ζεύγη-Tukey test					
Εξαρτημένη μεταβλητή	(I) επεξεργασία	(J) επεξεργασία	Διαφορά (I-J)	Τυπικό σφάλμα	P
βάρος	νωπό	ψημένο	21,613	0,6137	0,000
		κονσερβοποιημένο	20,510	0,6137	0,000
	ψημένο	νωπό	-21,613	0,6137	0,000
υγρασία	νωπό	κονσερβοποιημένο	-1,104	0,6137	0,174
		ψημένο	7,668	0,1891	0,000
	ψημένο	κονσερβοποιημένο	7,230	0,1891	0,000
		νωπό	-7,668	0,1891	0,000
		κονσερβοποιημένο	-0,438	0,1891	0,057

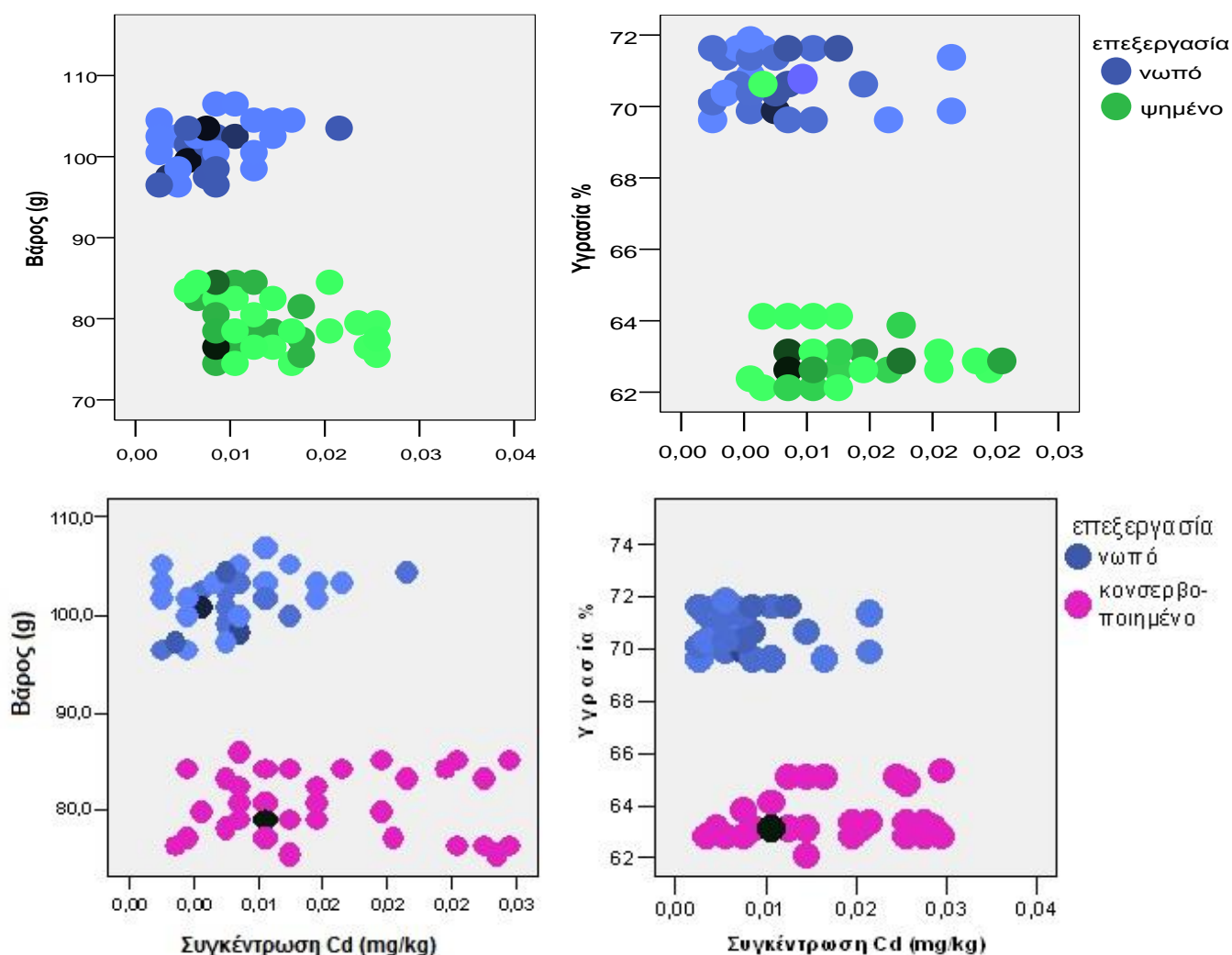
Οι ομοιότητες στη συμπεριφορά του βάρους και της υγρασίας κατά την επεξεργασία, αλλά και η διερεύνηση της πιθανής συσχέτισης μεταξύ της αύξησης του καδμίου και της μείωσης του βάρους ή της περιεχόμενης υγρασίας οδήγησε σε περαιτέρω στατιστική ανάλυση συσχέτισης μεταξύ του καδμίου, του βάρους και της υγρασίας (πίνακας 15.4). Το κάδμιο παρουσίασε σημαντική συσχέτιση, τόσο με το βάρος (συντελεστής συσχέτισης=-0,409) όσο και με την υγρασία (συντελεστής συσχέτισης=-0,376). Πολύ ισχυρή είναι η συσχέτιση μεταξύ βάρους και υγρασίας (0,797) κάτι που αποδεικνύει ότι η μείωση του βάρους κατά την επεξεργασία, οφείλεται κατά ένα μεγάλο ποσοστό στη μείωση της υγρασίας. Η συσχέτιση της συγκέντρωσης του καδμίου είναι αντίστροφη σε σχέση με το βάρος και με την υγρασία, δηλαδή το κάδμιο αυξάνεται, ενώ οι άλλες δύο παράμετροι μειώνονται.

Πίνακας 15.4. Έλεγχος συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών (με χρήση του συντελεστή Spearman rho).

(γ) Έλεγχος συσχέτισης-συντελεστής Spearman					
			κάδμιο	βάρος	υγρασία
Spearman's rho	κάδμιο	Correlation Coefficient	1,000	-0,409(**)	-0,376(**)
		Sig. (2-tailed)	.	0,000	0,000
	βάρος	Correlation Coefficient	-0,409(**)	1,000	0,797(**)
		Sig. (2-tailed)	0,000	.	0,000
	υγρασία	Correlation Coefficient	-0,376(**)	0,797(**)	1,000
		Sig. (2-tailed)	0,000	0,000	.

** Η συσχέτιση είναι σημαντική στο επίπεδο 0,01

Από τη στατιστική ανάλυση καθώς και από τα διαγράμματα καδμίου-βάρους και καδμίου-υγρασίας (σχήμα 15.5) συμπεραίνεται ότι η συγκέντρωση του καδμίου σχετίζεται με την αποβολή υγρασίας και βάρους την επεξεργασία.



Σχήμα 15.5. Διαγράμματα scatter plot συγκέντρωσης καδμίου, βάρους και υγρασίας κατά την επεξεργασία του ψησίματος και της κονσερβοποίησης.

Η απώλεια υγρασίας είναι μία από τις κύριες παραμέτρους που εξηγεί την αύξηση του καδμίου μετά την επεξεργασία, καθώς η μείωση της υγρασίας οδηγεί σε μεγαλύτερη συγκέντρωση του καδμίου στο ψημένο ή κονσερβοποιημένο προϊόν σε σύγκριση με το νωπό. Αποτέλεσμα της απώλειας υγρασίας είναι η συμπύκνωση των ιστών και επομένως η υψηλότερη περιεκτικότητα των ψημένων ή κονσερβοποιημένων ψαριών σε ξηρή ύλη και άρα σε κάδμιο. Για παράδειγμα, αν η επεξεργασία 100 g δείγματος επιφέρει μείωση 20 g στο τελικό προϊόν διατηρώντας την ίδια ποσότητα καδμίου, τότε το τελικό προϊόν θα ζυγίζει 80 g και θα περιέχει 25% περισσότερο κάδμιο σε σχέση με το νωπό προϊόν. Άρα το συγκεκριμένο προϊόν αρχικής συγκέντρωσης 1 mg/kg θα έχει τελική συγκέντρωση 1,25 mg/kg, που αποτελεί και την τελική ποσότητα διαιτητικής έκθεσης καδμίου.

Βέβαια, είναι φανερό ότι η μάζα του καδμίου δεν αλλάζει, αλλά αυτό που μεταβάλλεται είναι η σύσταση της σάρκας του ψαριού, η οποία έχει ως αποτέλεσμα να καταναλώνεται περισσότερο κάδμιο στην ίδια ποσότητα ψαριού σε σχέση με το νωπό προϊόν. Η συσχέτιση μεταξύ καδμίου και απώλειας υγρασίας έχει προηγουμένως αναφερθεί σε σχετικές ερευνητικές μελέτες πάνω σε διάφορα προϊόντα θαλασσινών, όπως για παράδειγμα σε κονσέρβες τόνου (Rasmussen και Morrissey, 2007), σε βαθιά-τηγανισμένο τόνο (Burger et al, 2003), αλλά και σε μαγειρεμένα θαλασσινά και αλίπαστα αλιεύματα (Devesa et al, 2001).

Το ποσοστό μείωσης της υγρασίας κατά την επεξεργασία του ψησίματος και της κονσερβοποίησης (10,2-10,9%) δεν ήταν ισόποσο με την αντίστοιχη αύξηση του καδμίου (63-88%) και άρα η συσχέτιση μεταξύ των δύο παραγόντων δεν ήταν ακριβώς ανάλογη. Όπως φαίνεται, η αύξηση του καδμίου είναι πολλαπλάσια από αυτή της υγρασίας. Επομένως, πρέπει να υπάρχουν επιπρόσθετοι παράγοντες που επάγουν την αύξηση του καδμίου στο επεξεργασμένο προϊόν. Για να δοθεί πιθανή εξήγηση σε αυτή την συμπεριφορά, αναζητήθηκαν επιπλέον μεταβολές της σύστασης της σάρκας του ψαριού κατά την επεξεργασία. Μια σημαντική μεταβολή κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας των αλιευμάτων είναι το μαλάκωμα του οστού και στα μικρά ψάρια της κατηγορίας της σαρδέλας η ενσωμάτωση μέρους του συνδετικού ιστού στη σάρκα του ψαριού. Για να διερευνηθεί η μεταβολή του συνδετικού

ιστού κατά την επεξεργασία, μετρήθηκε το βάρος του οστού, πριν και μετά το ψήσιμο και την κονσερβοποίηση. Το ψήσιμο επέφερε μείωση του οστού κατά 50% κατά μέσο όρο, ενώ η κονσερβοποίηση κατά 60%. Μετά την επεξεργασία, τμήμα του οστού είχε ενσωματωθεί με τη σάρκα του ψαριού, προσδίδοντας σε αυτό μια περισσότερο μαλακή και υδαρή υφή, ενώ το οστό έχασε τη σκληρή δομή του και παρουσίασε μαλακή υφή. Το μαλάκωμα και η μείωση του βάρους του ψαριού μετά το ψήσιμο και τη κονσερβοποίηση συνδέεται με τη θερμική αποικοδόμηση του κολλαγόνου που αποτελεί το κύριο τμήμα του συνδετικού ιστού, μαζί με τα ιόντα ασβεστίου (Okada et al., 1988). Το κολλαγόνο του συνδετικού ιστού αποικοδομείται τόσο με το ψήσιμο, όσο και με τη κονσερβοποίηση, καθώς εφαρμόζονται συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και υψηλής πίεσης στην κονσερβοποίηση. Εφόσον ο συνδετικός ιστός περιέχει σημαντική συγκέντρωση καδμίου, η ενσωμάτωση μέρους του συνδετικού ιστού στο τελικό προϊόν αποτελεί έναν επιπρόσθετο σημαντικό παράγοντα αύξησης του καδμίου στα ψημένα ή κονσερβοποιημένα προϊόντα.

Η διαπίστωση ότι το κόκαλο μπορεί να επιβαρύνει περαιτέρω τα μεταποιημένα αλιεύματα με κάδμιο, έχει ιδιαίτερα σημαντικές προεκτάσεις στην κατανάλωση ορισμένων αλιευμάτων. Είναι γνωστό ότι πολλά μικρά αλιεύματα καταναλώνονται μαζί με το οστό, καθώς αποτελεί εδώδιμο μέρος του ψαριού και σε πολλές περιπτώσεις αναπόσπαστο κομμάτι του τελικού προϊόντος. Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης κρίνεται αναγκαία η τακτική παρακολούθηση των επιπέδων καδμίου του συνδετικού ιστού, καθώς συγκεντρώνει περισσότερο από 90% της συνολικής ποσότητας του καδμίου στο προϊόν. Επιπλέον, κρίνεται απαραίτητος ο έλεγχος της ασφάλειας των αλιευμάτων αυτών, όχι μόνο στη σάρκα, αλλά και σε ολόκληρο το προϊόν (μαζί με το οστό), εφόσον κατά τις μεταποιητικές διαδικασίες χρησιμοποιείται ή/και μπορεί να καταναλωθεί μαζί με το οστό. Από άποψη εκτίμησης της επικινδυνότητας αυτών των αλιευμάτων, αν στο μέλλον επιβεβαιωθεί και σε άλλα είδη ότι το κάδμιο συσσωρεύεται κυρίως στο οστό των ψαριών, ενδεχομένως να κριθεί απαραίτητη μια διατροφική οδηγία αποφυγής της κατανάλωσης των ψαριών μαζί με το οστό, τουλάχιστον προς ευαίσθητες πληθυσμιακές ομάδες (παιδιά, έγκυες, θηλάζουσες κτλ).

15.1.2. Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου

Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου εξετάστηκε στα δείγματα σαρδέλας μετά την εφαρμογή της επεξεργασίας (α) ψησίματος και (β) βιομηχανικής κονσερβοποίησης. Κατόπιν της εφαρμογής του ψησίματος, η συγκέντρωση του μολύβδου στη σάρκα της σαρδέλας βρέθηκε κατά μέσο όρο στα $0,202 \pm 0,06$ mg/kg, ενώ οι τιμές στα δείγματα κυμάνθηκαν μεταξύ 0,077 και 0,327 mg/kg.

Τα αποτελέσματα της ψημένης σαρδέλας έδειξαν ότι η συγκέντρωση του μολύβδου στο οστό κυμάνθηκε μετά το ψήσιμο μεταξύ 0,665 έως 1,770 mg/kg, με μέσο όρο τα $1,014 \pm 0,31$ mg/kg. Η συγκέντρωση στο οστό της ψημένης σαρδέλας έδειξε αυξημένες τιμές μολύβδου, με τον μέσο όρο να ξεπερνά πάνω από τρεις φορές το νομοθετικό όριο των 0,3 mg/kg. Η σύγκριση των δύο διαφορετικών ιστών (σάρκα-οστό) έδειξε ότι το οστό συγκεντρώνει στατιστικά σημαντικά περισσότερο μόλυβδο από τη σάρκα, καθώς σημείωσε 5πλάσιες συγκεντρώσεις μολύβδου από τη σάρκα της σαρδέλας στα ίδια δείγματα ψημένου ψαριού ($F=252,75$, $P<0,05$).

Τα αποτελέσματα για τη συγκέντρωση μολύβδου στην ψημένη σαρδέλα δείχνουν ότι το μέταλλο αυτό παρουσιάζει αρκετά αυξημένες τιμές, με τον μέσο όρο να βρίσκεται στο 65% του νομοθετικού ορίου των 0,3 mg/kg, ενώ τρία δείγματα ξεπέρασαν το όριο αυτό, επομένως συνιστάται προσοχή και συνεχής παρακολούθηση για τον έλεγχο καταλληλότητας ψημένης σαρδέλας. Τονίζεται ότι στα ίδια νωπά δείγματα δεν παρουσιάστηκαν τιμές που ξεπέρασαν το όριο ασφάλειας της Ε.Ε. Σχετικά με προγενέστερες μελέτες σε ψάρια που έχουν υποστεί παρόμοια θερμική επεξεργασία, τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής συμφωνούν με τα επίπεδα μολύβδου σε ψημένα και μαγειρεμένα φιλέτα από λαβράκι, το οποίο σημείωσε τιμές μεταξύ 0,156-0,284 mg/kg χρησιμοποιώντας διάφορες μεθόδους θερμικής κατεργασίας (Ersoy et al., 2006) και σε φιλέτο από σκουμπρί, το οποίο σημείωσε μέσο όρο τα 0,2 mg/kg μετά από μαγείρεμα (Musaiger and D'Souza, 2008). Μικρότερες τιμές αναφέρονται σε σαρδέλες από την Ισπανία (Perelló et al., 2008) και από την ελληνική αγορά (Kalogeropoulos et al., 2012), αλλά σημειώνεται ότι και οι δύο προγενέστερες μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει σαρδέλες χαμηλότερης αρχικής συγκέντρωσης σε μόλυβδο σε σύγκριση με την παρούσα έρευνα.

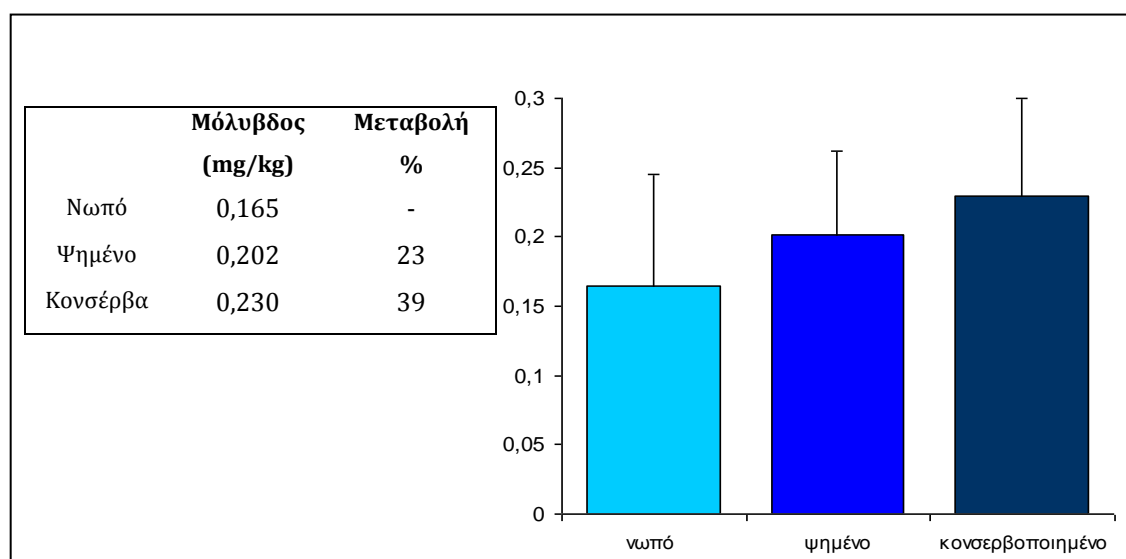
Κατά την εφαρμογή της επεξεργασίας της κονσερβοποίησης, η συγκέντρωση του μολύβδου στη σάρκα της σαρδέλας κυμάνθηκε από 0,124 έως 0,479 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,230 \pm 0,07$ mg/kg. Σε ότι αφορά στη συγκέντρωση μολύβδου και στο όριο ασφαλείας της Ε.Ε. για τον μόλυβδο στις σαρδέλες, ο μέσος όρος των 0,230 mg/kg είναι αρκετά αυξημένος και άγγιξε το 75% του ορίου των 0,3 mg/kg, ενώ 9 από τα 50 δείγματα κονσερβοποιημένης σαρδέλας σημείωσαν τιμές άνω του ορίου ασφαλείας της Ε.Ε. (σημ. το όριο αναφέρεται σε νωπά ψάρια).

Σχετικά με τη συγκέντρωση μολύβδου στο οστό της κονσερβοποιημένης σαρδέλας, μια παράμετρος με ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς το οστό καταναλώνεται μαζί με στη σάρκα στις κονσέρβες, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά τη κονσερβοποίηση η συγκέντρωση του μολύβδου κυμάνθηκε μεταξύ 0,557 έως 1,848 mg/kg, με μέσο όρο τα $1,095 \pm 0,34$ mg/kg. Όλα τα δείγματα οστού ξεπέρασαν το νομοθετικό όριο για μόλυβδο σε σαρδέλα, τα 0,3 mg/kg. Η σύγκριση των επιπέδων μολύβδου των δύο διαφορετικών ιστών στο κονσερβοποιημένο προϊόν έδειξε ότι τα δείγματα του οστού παρουσιάζουν στατιστικά αυξημένες συγκεντρώσεις μολύβδου σε σχέση με τη σάρκα, με το οστό να συγκεντρώνει περίπου 5 φορές περισσότερο μόλυβδο ($F=248,29$, $P<0,05$).

Σε σχέση με προγενέστερα ερευνητικά δεδομένα για κονσερβοποιημένα ψάρια, υπάρχουν αρκετές δημοσιευμένες μελέτες σε κονσερβοποιημένες σαρδέλες. Μελέτη πάνω σε κονσερβοποιημένα προϊόντα των Η.Π.Α. βρήκε παρόμοιες συγκεντρώσεις σε κονσερβοποιημένες σαρδέλες, με μέσο όρο τα 0,3 mg/kg (Ikem and Egiebor, 2005), ενώ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (0,835 mg/kg) σε κονσέρβες σαρδέλας της αγοράς της Σαουδικής Αραβίας ανέφεραν οι Ashraf et al., (2006). Επίσης, οι Tarley et al., (2001) μελετώντας διαφορετικές μάρκες κονσερβοποιημένων προϊόντων της Βραζιλίας βρήκαν αυξημένες συγκεντρώσεις μολύβδου, με τιμές μεταξύ 0,77 και 2,15 mg/kg, αναλύοντας όμως δείγματα ξηρού βάρους. Μεταγενέστερη έρευνα σε κονσερβοποιημένες σαρδέλες της αγοράς του Kentucky-Η.Π.Α δημοσίευσε χαμηλότερες συγκεντρώσεις μεταξύ 0,06-0,27 mg/kg (Shiber, 2011). Όπως και στο κάδμιο, οι διαφορετικές τιμές μεταξύ των μελετών αποδίδονται σε αναλυτικές διαφορές, αλλά και στα διαφορετικά είδη σαρδέλας που χρησιμοποιήθηκαν, στις

διαφορετικές περιοχές και χρόνους δειγματοληψίας, καθώς και σε διαφορές στα αρχικά επίπεδα της πρώτης ύλης που χρησιμοποιήθηκε για κονσερβοποίηση.

Προχωρώντας στη διερεύνηση της επίδρασης της επεξεργασίας στα αρχικά επίπεδα μολύβδου του νωπού προϊόντος, έγινε περαιτέρω συγκριτική διερεύνηση των επιπέδων σαρδέλας πριν και μετά την επεξεργασία του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Τα αποτελέσματα δίνονται στο σχήμα 15.6. Όπως φαίνεται από το σχήμα, αλλά και από τα αριθμητικά δεδομένα, η συγκέντρωση του μολύβδου παρουσίασε αύξηση, τόσο κατά το ψήσιμο, όσο και κατά την κονσερβοποίηση. Η συγκέντρωση του μολύβδου αυξήθηκε κατά 23% μετά το ψήσιμο και κατά 39% μετά την κονσερβοποίηση. Τόσο σχηματικά αλλά και από τα ποσοστά μεταβολής του μέσου όρου, φαίνεται ότι και κατά τις δύο περιπτώσεις επεξεργασίας, η συγκέντρωση του καδμίου κινήθηκε αυξητικά. Για τον προσδιορισμό του βαθμού επίδρασης της επεξεργασίας του ψησίματος και της κονσερβοποίησης, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 15.5.



Σχήμα 15.6. Μεταβολή της συγκέντρωσης του μολύβδου στη σάρκα της σαρδέλας μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους (mg/kg).

Από την ανάλυση διακύμανσης συμπεραίνεται ότι η εφαρμογή της επεξεργασίας επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση του μολύβδου ($F=19,00$, $P<0,05$). Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση του μολύβδου αυξήθηκε κατά 63%

μετά την εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας και 88% μετά την εφαρμογή της κονσερβοποίησης. Η σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη έδειξε μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο μορφές επεξεργασίας, γεγονός που δηλώνει ότι ο βαθμός επίδρασης των δύο τύπων επεξεργασίας ήταν παρόμοιος.

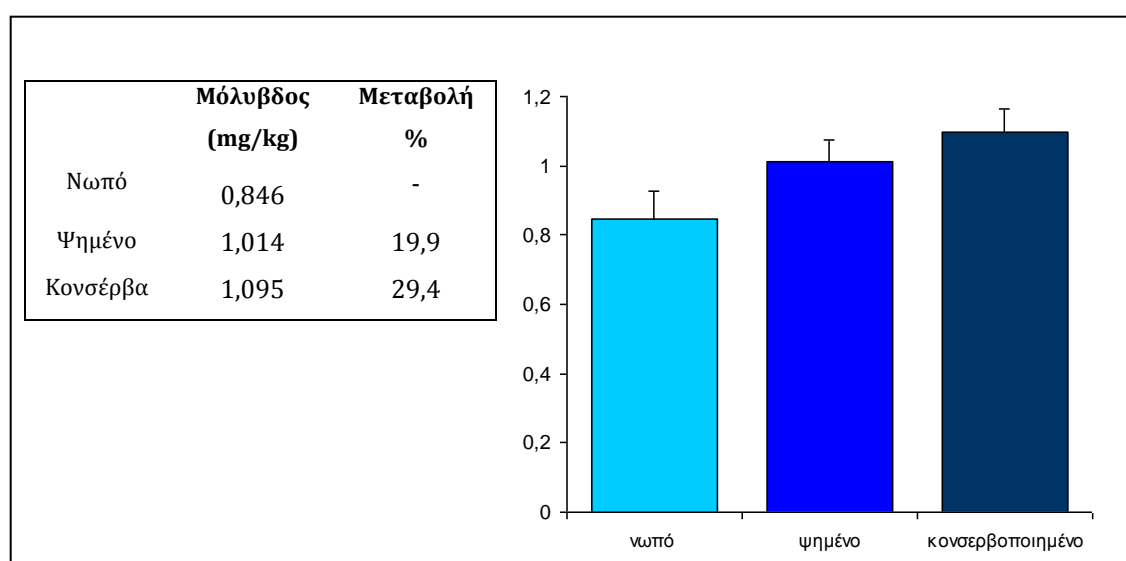
Τα αποτελέσματα της έρευνας αποδεικνύουν ότι και οι δύο τύποι επεξεργασίας μπορούν να επηρεάσουν τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων και μάλιστα να προκαλέσουν αύξηση της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων στο τελικό προϊόν. Η αύξηση του μολύβδου ήταν μικρότερη από αυτή του καδμίου και κυμάνθηκε μεταξύ 23-39%, ενώ στην περίπτωση του καδμίου κυμάνθηκε μεταξύ 63-87%. Η διαφορά αυτή αποδίδεται τόσο στον διαφορετικό τύπο του μετάλλου, ο οποίος πιθανόν να επηρεάζει τη μεταβολική οδό συσσώρευσης του μετάλλου και άρα τον τρόπο συμπεριφοράς του κάθε διαφορετικού τύπου μετάλλου κατά την επεξεργασία.

Πίνακας 15.5. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης (α) για την επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου στη σάρκα της σαρδέλας και (β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών τύπων επεξεργασίας. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

(α) Ανάλυση διακύμανσης -ANOVA					
	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντικότητα
Επεξεργασία	0,105	2	0,053	11,727	0,000
Error	0,660	147	0,004		
Total	6,741	150			
Corrected Total	0,765	149			

(β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (Post Hoc test)				
(I) επεξεργασία	(J) επεξεργασία	Διαφορά μέσων όρων	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα
νωπό	ψημένο	-0,03654	0,013397	0,019
	κονσερβοποιημένο	-0,06470	0,013397	0,000
ψημένο	νωπό	0,03654	0,013397	0,019
	κονσερβοποιημένο	-0,02816	0,013397	0,093
κονσερβοποιημένο	νωπό	0,06470	0,013397	0,000
	ψημένο	0,02816	0,013397	0,093

Στη συνέχεια της πειραματικής μελέτης εξετάστηκε η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου στο οστό της σαρδέλας και τα αποτελέσματα φαίνονται στο σχήμα 15.7. Παρομοίως με τη σάρκα, η συγκέντρωση του καδμίου στο οστό αυξήθηκε κατά την εφαρμογή των δύο τύπων επεξεργασίας, το ποσοστό όμως της αύξησης ήταν αρκετά μικρότερο σε σχέση με τη σάρκα και κυμάνθηκε μεταξύ 19,9-29,9%. Για να διερευνηθεί ο βαθμός επίδρασης της επεξεργασίας του ψησίματος και της κονσερβοποίησης, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση με τον ίδιο τρόπο, όπως και στη σάρκα της σαρδέλας και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 15.6.



Σχήμα 15.7. Μεταβολή της συγκέντρωσης του μολύβδου (mg/kg) στο οστό της σαρδέλας μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους.

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων του οστού (πίνακας 15.6) έδειξε ότι μετά την επεξεργασία των αλιευμάτων σαρδέλας η αύξηση του μολύβδου ήταν στατιστικά σημαντική και άρα η επεξεργασία επηρέασε τη συγκέντρωση του μολύβδου τόσο στη σάρκα, όσο και στο οστό της σαρδέλας ($F=9,375$, $P<0,05$). Για να διερευνηθεί περαιτέρω η επίδραση του κάθε διαφορετικού τύπου επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση διακύμανσης ανά ζεύγη (πίνακας 15.1.2.2), η οποία έδειξε ότι δεν υπάρχει καμιά στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στο ψημένο και το κονσερβοποιημένο οστό, ενώ μόνο τα νωπά δείγματα επηρεάστηκαν

σημαντικά και από τις δύο μορφές επεξεργασίας. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι, όπως και στη σάρκα, το σημαντικότερο στάδιο επεξεργασίας, στο οποίο παρατηρείται η κυριότερη αύξηση της συγκέντρωσης του βαρέως μετάλλου, είναι το στάδιο του ψησίματος, ενώ η κονσερβοποίηση προκάλεσε περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του μολύβδου κατά 10%, χωρίς όμως να κρίνεται σημαντική η διαφορά μεταξύ ψησίματος και κονσερβοποίησης ($P>0,05$).

Πίνακας 15.6. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης (α) για την επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου στο οστό της σαρδέλας και (β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών τύπων επεξεργασίας. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

(α) Ανάλυση διακύμανσης -ANOVA					
	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντικότητα
Επεξεργασία	2,491	2	1,245	9,375	0,000
Error	19,526	147	0,133		
Total	180,457	150			
Corrected Total	22,017	149			

(β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (Post Hoc test)				
(I) επεξεργασία	(J) επεξεργασία	Διαφορά μέσω των όρων	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα
νωπό	ψημένο	-0,1680	0,06534	0,030
	κονσερβοποιημένο	-0,2486	0,06534	0,001
ψημένο	νωπό	0,1680	0,06534	0,030
	κονσερβοποιημένο	-0,0806	0,06534	0,436
κονσερβοποιημένο	νωπό	0,2486	0,06534	0,001
	ψημένο	0,0806	0,06534	0,436

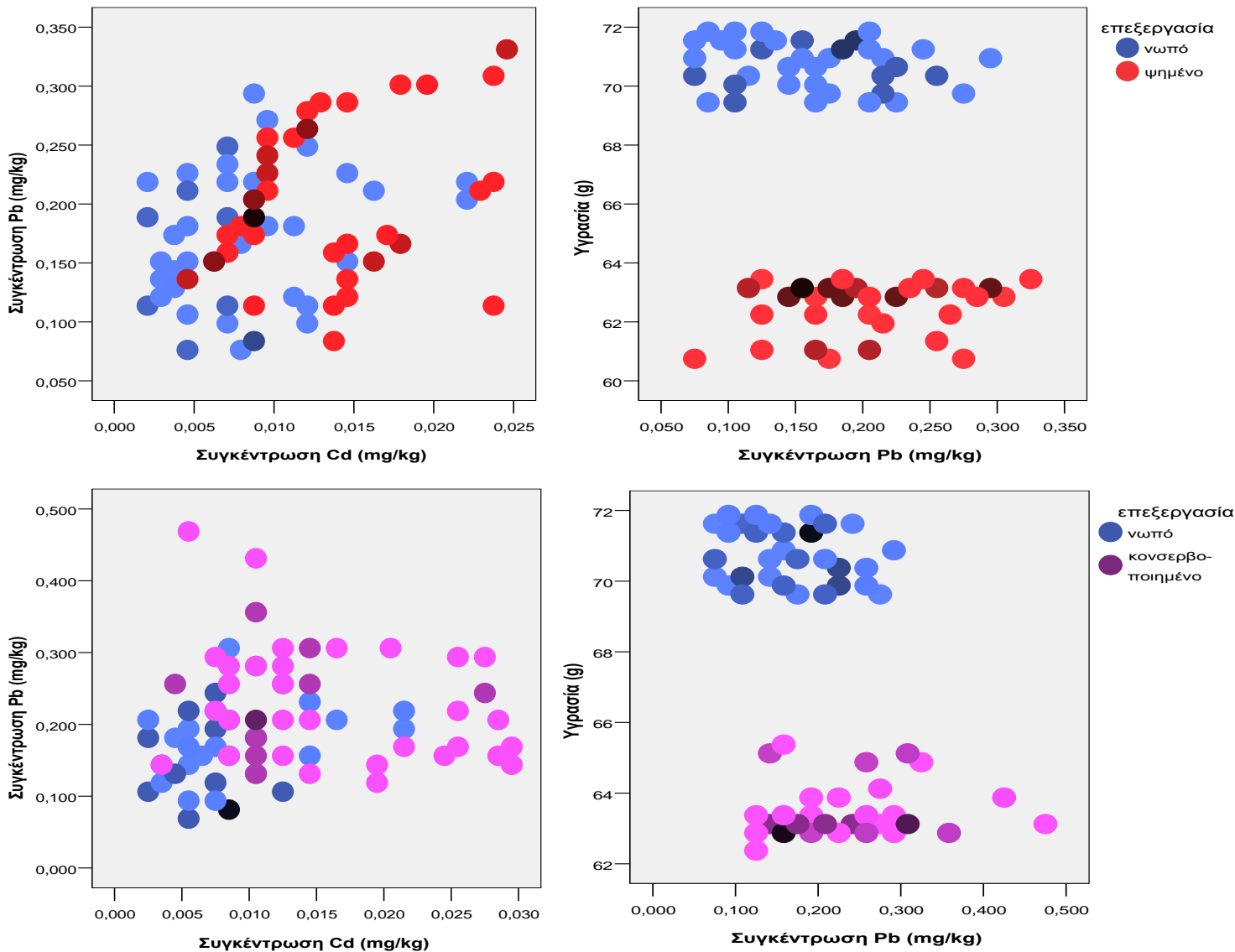
Παρομοίως με το κάδμιο, εξετάστηκε στατιστικά και η συσχέτιση μεταξύ του μολύβδου, του βάρους, της περιεχόμενης υγρασίας και του μολύβδου με βάση τον συντελεστή συσχέτισης Spearman (πίνακας 15.7). Ο μόλυβδος παρουσίασε σημαντική αντίστροφη συσχέτιση με την υγρασία (συντελεστής συσχέτισης=-0,213) (σχήμα 15.8). Η συγκέντρωση του μολύβδου δεν

παρουσίασε σημαντική συσχέτιση με το βάρος του δείγματος, φαινόμενο που υποδεικνύει ότι η μεταβολή του μολύβδου οφείλεται και σε άλλους παράγοντες εκτός από την απώλεια βάρους κατά την επεξεργασία. Σημαντικό εύρημα είναι η σημαντική θετική σχέση των δύο βαρέων μετάλλων (συντελεστής συσχέτισης=0,261), κάτι που δείχνει ότι υπάρχουν ομοιότητες στην συμπεριφορά των βαρέων μετάλλων κατά την επεξεργασία. Θετική συσχέτιση σε επεξεργασμένα αλιεύματα έχει αναφερθεί για το κάδμιο και τον υδράργυρο σε ψάρια της Νέας Ζηλανδίας (Bekhit et al., 2008).

Πίνακας 15.7. Έλεγχος συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών μολύβδου-βάρους-υγρασίας-καδμίου (με χρήση του συντελεστή Spearman rho).

Έλεγχος συσχέτισης-συντελεστής Spearman					
			Μόλυβδος	βάρος	υγρασία
Spearman's rho	Μόλυβδος	Correlation Coefficient	1,000	0,009	-0,213(**)
		Sig. (2-tailed)	.	0,909	0,009
	Βάρος	Correlation Coefficient	0,009	1,000	0,757(**)
		Sig. (2-tailed)	0,909	.	0,000
	Υγρασία	Correlation Coefficient	-0,213(**)	0,757(**)	1,000
		Sig. (2-tailed)	0,009	0,000	.
	Κάδμιο	Correlation Coefficient	0,261(**)	-0,367(**)	-0,291(**)
		Sig. (2-tailed)	0,001	0,000	0,000

**** Η συσχέτιση είναι σημαντική στο επίπεδο 0,01**



Σχήμα 15.8. Διαγράμματα scatter plot συγκέντρωσης καδμίου, μολύβδου, βάρους και υγρασίας κατά την επεξεργασία του ψησίματος και της κονσερβοποίησης.

15.2 Γαύρος

15.2.1. Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου

Όπως και στη σαρδέλα, στα δείγματα του νωπού γαύρου μελετήθηκε η επίδραση της επεξεργασίας (α) του ψησίματος και (β) της βιομηχανικής κονσερβοποίησης. Μετά την επεξεργασία του ψησίματος, η συγκέντρωση του καδμίου βρέθηκε στα $0,022 \pm 0,009$ mg/kg, με ελάχιστη τιμή τα 0,008 mg/kg και μέγιστη τιμή τα 0,061 mg/kg.

Η μελέτη των αποτελεσμάτων για το οστό του γαύρου έδειξε ότι μετά το ψήσιμο, η συγκέντρωση του καδμίου κυμάνθηκε από 0,016 έως 0,226 mg/kg, με μέσο όρο τα 0,125 mg/kg. Σε σχέση με τη σάρκα, το οστό στο ψημένο γαύρο

συγκέντρωσε πάνω από 6 φορές περισσότερο κάδμιο, αποδεικνύοντας όπως και στη σαρδέλα ότι το οστό αποτελεί ένα από τα κύρια σημεία συσσώρευσης του καδμίου. Όπως ήταν αναμενόμενο, η στατιστική ανάλυση επιβεβαίωσε τη στατιστικά σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση του καδμίου μεταξύ σάρκας και οστού ($F=165,63$, $P<0,05$). Τα δεδομένα της βιβλιογραφίας για το οστό του γαύρου είναι αρκετά περιορισμένα, ιδιαίτερα σε ψάρια που έχουν υποστεί μαγείρεμα ή επεξεργασία. Μια παλαιότερη έρευνα στο είδος *Tilapia nilotica*, έδειξε ότι το κεφάλι του ψαριού, το οποίο έχει μέρος οστού έχει 6 φορές περισσότερο κάδμιο από τη σάρκα του ψαριού, επιβεβαιώνοντας ότι το οστό αποτελεί ένα βασικό σημείο συσσώρευσης καδμίου (Atta et al., 1997).

Συγκριτικά με τα όρια της Ε.Ε. για το κάδμιο και τα αποτελέσματα του ψημένου γαύρου, τα δεδομένα δείχνουν ότι τα δείγματα βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα επικινδυνότητας. Κανένα δείγμα δεν εμφάνισε τιμές μεγαλύτερες από το ανώτερο επιτρεπτό επίπεδο των $0,3 \text{ mg/kg}$, οπότε συμπεραίνεται ότι όπως και στη σαρδέλα, δεν υπάρχει σοβαρός κίνδυνος τοξικότητας καδμίου από την κατανάλωση ψημένου γαύρου. Το οστό αντίθετα εμφάνισε αυξημένες συγκεντρώσεις καδμίου, καθώς αρκετά δείγματα βρέθηκαν πάνω από $0,2 \text{ mg/kg}$, οπότε η κατανάλωσή του φαίνεται ότι πρέπει να αποφεύγεται, καθώς συγκεντρώνει αυξημένα ποσά καδμίου.

Η σύγκριση των αποτελεσμάτων για το ψημένο γαύρο και άλλων προγενέστερων δεδομένων για ψάρια που έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία, έδειξε ότι τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι σε συμφωνία με πρόσφατο πείραμα σε γαύρους της ελληνικής αγοράς που έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία με ψήσιμο σε γκριλ με μέσο όρο τιμών τα $0,018 \pm 0,1 \text{ mg/kg}$. Άλλα ψάρια της ελληνικής αγοράς (π.χ. κέφαλος, κουτσομούρα) μετά το ψήσιμο παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές καδμίου μεταξύ $0,1$ έως και $0,19 \text{ mg/kg}$, έχοντας όμως ήδη αυξημένες συγκεντρώσεις καδμίου στο νωπό προϊόν (Kalogeropoulos et al., 2012).

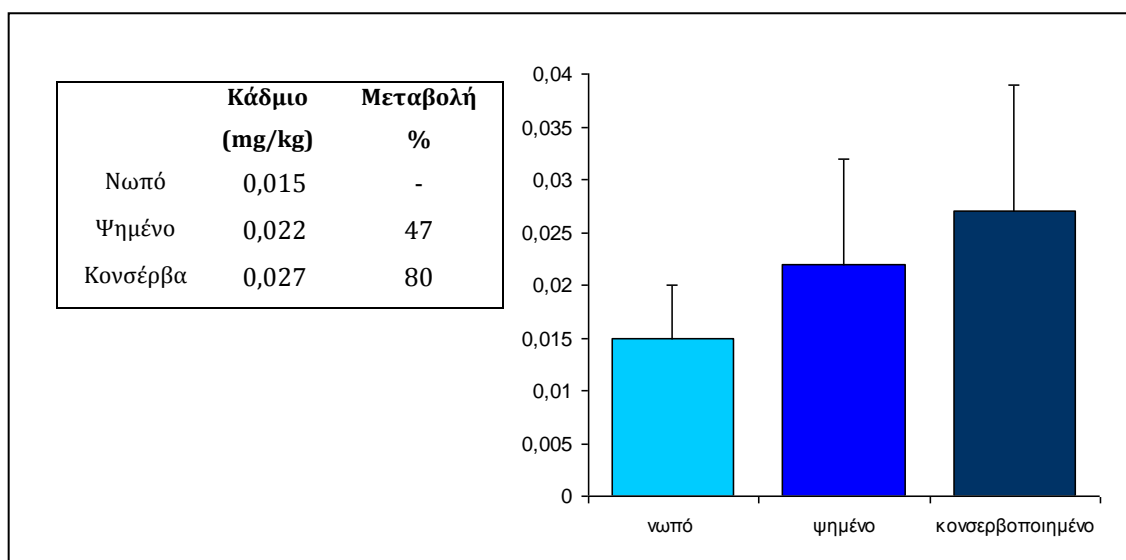
Σχετικά με την εφαρμογή της επεξεργασίας της κονσερβοποίησης, η συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα του γαύρου κυμάνθηκε από 0,008 μέχρι 0,075 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,027 \pm 0,008$ mg/kg. Ως κονσερβοποιημένο προϊόν, ο μέσος όρος των 0,027 mg/kg είναι αρκετά χαμηλότερος από το ισχύον νομοθετικό όριο της Ευρωπαϊκής Ένωσης (0,3 mg/kg), οπότε η κατανάλωση κονσερβοποιημένου γαύρου δε αποτελεί κίνδυνο τοξικότητας. Παρόλα αυτά, το οστό του κονσερβοποιημένου γαύρου παρουσίασε σημαντικά αυξημένες τιμές καδμίου και επομένως η συγκέντρωση του συγκεκριμένου μετάλλου θα πρέπει να παρακολουθείται τακτικά σε ψάρια που προορίζονται να κονσερβοποιηθούν.

Τα αποτελέσματα για το οστό του γαύρου έδειξαν ότι μετά τη κονσερβοποίηση η συγκέντρωση του καδμίου κυμάνθηκε από 0,167 έως 0,245 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,187 \pm 0,014$ mg/kg. Από τη σύγκριση των μέσων όρων σάρκας-οστού (0,027 έναντι 0,187 mg/kg), η στατιστική ανάλυση μεταξύ των δύο διαφορετικών ιστών έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στο κάδμιο ($F=3834,463$, $P<0,05$), με το οστό να συγκεντρώνει επταπλάσια ποσότητα καδμίου, παρομοίως με τα δεδομένα στο ψημένο προϊόν.

Η σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης με προγενέστερα ερευνητικά δεδομένα για κονσερβοποιημένο γαύρο, ο οποίος είναι σημαντικότερης εμπορικής αξίας, έδειξε ότι τα δεδομένα του πειράματος βρίσκονται σε συμφωνία με αποτελέσματα από κονσέρβες γαύρου της αγοράς της Τουρκίας που έδωσαν μέσο όρο τα 0,025 mg/kg (Çelic et al., 2007). Σε κονσέρβες της Τουρκίας έχουν καταγραφεί και υψηλότερες τιμές, με μέσο όρο τα 0,12 mg/kg (Tuzen and Soylak, 2007). Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε άλλα κονσερβοποιημένα ψάρια, έχουν καταγραφεί χαμηλότερες συγκεντρώσεις καδμίου, μεταξύ 0,007-0,014 mg/kg (Morgano et al., 2011; Voegborlo et al., 1999), πιθανότατα λόγω του διαφορετικού είδους, περιοχής και χρόνου αλίευσης στα αλιεύματα που χρησιμοποιήθηκαν για τα διάφορα εξεταζόμενα προϊόντα.

Προχωρώντας στη μελέτη της επίδρασης των δύο επεξεργασιών στα επίπεδα του καδμίου, πραγματοποιήθηκε σύγκριση της συγκέντρωσης καδμίου πριν και μετά την κάθε μορφή επεξεργασίας. Στο γράφημα του σχήματος 15.9. δίνεται σχηματικά η συγκέντρωση του καδμίου στο οστό του γαύρου πριν και μετά την εφαρμογή της του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Η

συγκέντρωση του καδμίου αυξήθηκε κατά 47% μετά την εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας και 80% μετά την κονσερβοποίηση. Για να διερευνηθεί ο βαθμός επίδρασης της επεξεργασίας του ψησίματος και της κονσερβοποίησης, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 15.8.



Σχήμα 15.8. Μεταβολή της συγκέντρωσης του καδμίου στη σάρκα του γαύρου μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους (mg/kg).

Από την ανάλυση διακύμανσης συμπεραίνεται ότι η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα ήταν στατιστικά σημαντική ($F_{επεξ.}=16,09$ $P<0,05$, $F_{\psi\eta\sigma.}=15,99$ $P<0,05$, $F_{\text{κονσερ.}}=33,49$, $P<0,05$). Η σύγκριση πιθανώς στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (τεστ Post-Hoc) έδειξε μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο μορφές επεξεργασίας, γεγονός που δηλώνει ότι ο βαθμός επίδρασης των δύο τύπων επεξεργασίας ήταν σε παρόμοια επίπεδα, αν και η κονσερβοποίηση επέφερε επιπλέον αύξηση στη συγκέντρωση καδμίου απ' ότι το ψήσιμο.

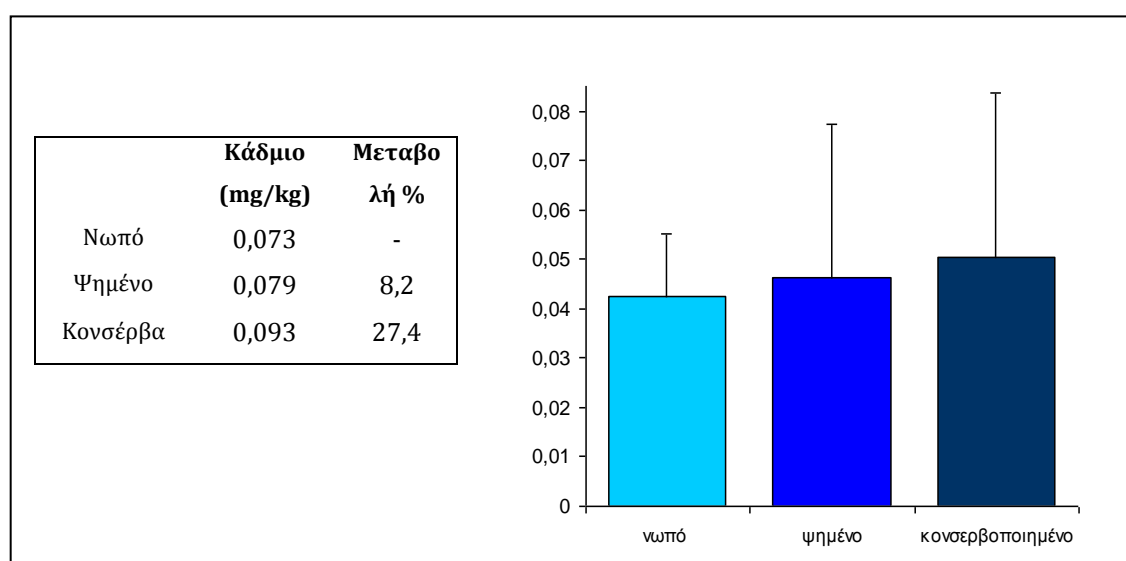
Πίνακας 15.8. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης (α) για την επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα του γαύρου (α) και σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών τύπων. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

(α) Ανάλυση διακύμανσης -ANOVA					
	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντικότητα
Επεξεργασία	0,003	2	0,001	16,09	0,000
Error	0,013	147	9,09E-005		
Total	0,087	150			
Corrected Total	0,016	149			

(β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (Post Hoc test)				
(I) επεξεργασία	(J) επεξεργασία	Διαφορά μέσων όρων	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα
νωπό	ψημένο	-0,00640	0,001907	0,003
	κονσερβοποιημένο	-0,01075	0,001907	0,000
ψημένο	νωπό	0,00640	0,001907	0,003
	κονσερβοποιημένο	-0,00435	0,001907	0,061
κονσερβοποιημένο	νωπό	0,01075	0,001907	0,000
	ψημένο	0,00435	0,001907	0,061

Τα αποτελέσματα αυτά αποδεικνύουν ότι και οι δύο τύποι επεξεργασίας μπορούν να επηρεάσουν τη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων και επιπλέον να προκαλέσουν αύξηση της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων στο τελικό προϊόν, σε ποσοστό που κυμαίνεται ανάλογα με τη μορφή της επεξεργασίας. Το ψήσιμο αύξησε τη συγκέντρωση καδμίου στη σάρκα περίπου στο 50%, τιμή πολλαπλάσια εκείνης για τη συγκέντρωση του καδμίου στη σαρδέλα (κατά μέσο όρο στο 65%). Στα ίδια δείγματα γαύρου, η κονσερβοποίηση αύξησε τη συγκέντρωση καδμίου μέχρι και 80%, γεγονός το οποίο βρίσκεται σε συμφωνία με την αύξηση της συγκέντρωσης του καδμίου στη σαρδέλα, όπου η εφαρμογή της κονσερβοποίησης προκάλεσε αύξηση της τάξης του 88%. Οι ομοιότητες στην επίδραση της επεξεργασίας ανάμεσα στα δύο διαφορετικά είδη ψαριού οφείλονται στο γεγονός ότι χρησιμοποιήθηκαν πανομοιότυπες συνθήκες επεξεργασίας στα δύο είδη ψαριού, αλλά και στην παρόμοια χημική σύσταση των δύο ειδών (Marin et al., 2010; Šimat and Bogdanović, 2012).

Όπως και στη σαρδέλα, στη συνέχεια εξετάστηκε η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου στο οστό του γαύρου και τα αποτελέσματα φαίνονται στο σχήμα 15.10. Όπως φαίνεται και σχηματικά, η συγκέντρωση του καδμίου στο οστό αυξήθηκε σημαντικά κατά την εφαρμογή των δύο τύπων επεξεργασίας. Η αύξηση ήταν 8,2% μετά το ψήσιμο και 27,4% μετά την κονσερβοποίηση. Για να διερευνηθεί αν η επίδραση της επεξεργασίας ήταν στατιστικά σημαντική πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 15.9.



Σχήμα 15.10. Μεταβολή της συγκέντρωσης του καδμίου (mg/kg) στο οστό του γαύρου μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους.

Η στατιστική ανάλυση στο οστό του γαύρου (πίνακας 15.9) έδειξε ότι όπως και στη σαρδέλα, παρόλο που καταγράφηκε αυξητική τάση μετά την επεξεργασία του ψαριού, η αύξηση αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($F=2,736$, $P>0,05$), ούτε και στο νωπό, το θερμικά επεξεργασμένο και το κονσερβοποιημένο οστό. Όπως φαίνεται, ο συνδετικός ιστός δεν επηρεάζεται στον ίδιο βαθμό από τη σάρκα του ψαριού. Αυτό πιθανότατα να συνδέεται με τον μηχανισμό συγκράτησης και τον τρόπο σύνδεσης των βαρέων μετάλλων στα δύο είδη ιστών, ο οποίος φαίνεται ότι στον συνδετικό ιστό επηρεάζεται λιγότερο από τις συνθήκες επεξεργασίας (θέρμανση, υψηλή πίεση) παρά στον σαρκοπλασματικό ιστό της σάρκας του ψαριού.

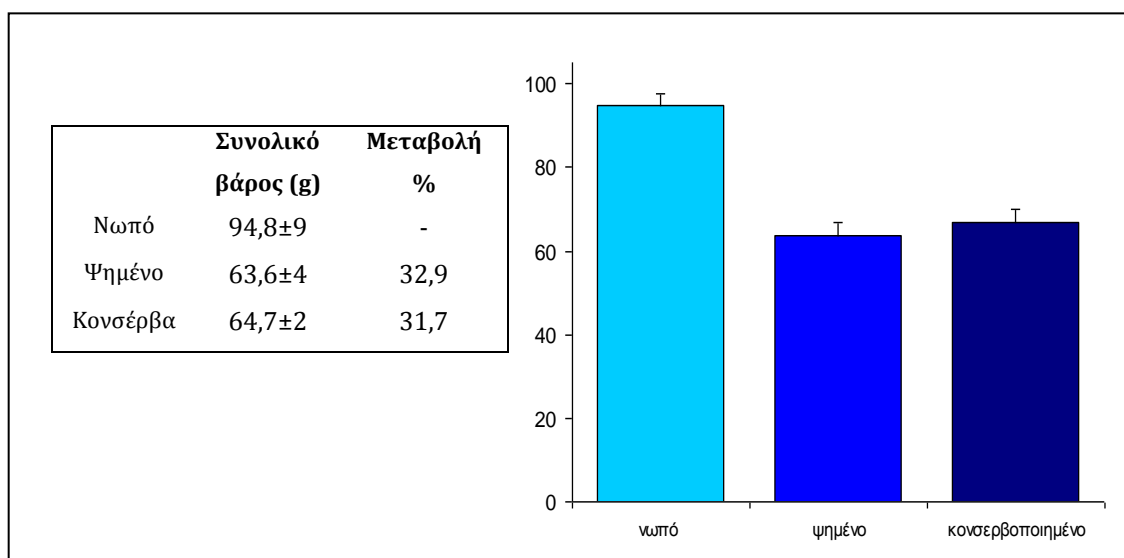
Πίνακας 15.9. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης (α) για την επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου στο οστό του γαύρου και (β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών τύπων επεξεργασίας. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

(α) Ανάλυση διακύμανσης -ANOVA					
	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντικότητα
Επεξεργασία	0,011	2	0,005	2,376	0,096
Error	0,332	147	0,002		
Total	1,353	150			
Corrected Total	0,343	149			

(β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (Post Hoc test)				
(I) επεξεργασία	(J) επεξεργασία	Διαφορά μέσων όρων	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα
νωπό	ψημένο	-0,00684	0,009509	0,752
	κονσερβοποιημένο	-0,02037	0,009509	0,085
ψημένο	νωπό	0,00684	0,009509	0,752
	κονσερβοποιημένο	-0,01353	0,009509	0,332
κονσερβοποιημένο	νωπό	0,02037	0,009509	0,085
	ψημένο	0,01353	0,009509	0,332

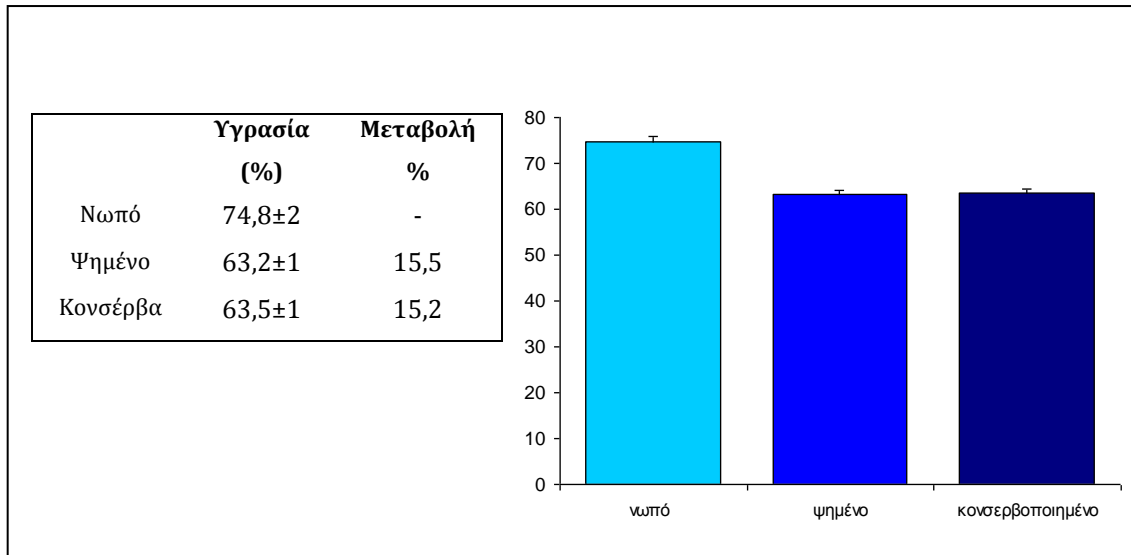
Με στόχο να εξηγηθεί περαιτέρω ο τρόπος επίδρασης της επεξεργασίας στη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων, διερευνήθηκε η μεταβολή του βάρους και της υγρασίας των δειγμάτων γαύρου και στις δύο μορφές επεξεργασίας. Για τη μεταβολή του βάρους, έγινε σύγκριση μεταξύ των δεδομένων του βάρους των δειγμάτων πριν και μετά την κάθε επεξεργασία, ενώ για την υγρασία πραγματοποιήθηκε στα ίδια δείγματα προσδιορισμός της συνολικής υγρασίας πριν και μετά τις ίδιες μορφές επεξεργασίας. Τα αποτελέσματα για τη μεταβολή του βάρους δίνονται στο σχήμα 15.10.

Όπως φαίνεται και σχηματικά, το βάρος του γαύρου μειώθηκε, τόσο κατά το ψήσιμο, όσο και κατά την κονσερβοποίηση. Το βάρος εμφάνισε ποσοστό μείωσης κατά 32,9% μετά την επεξεργασία της θέρμανσης και 29,6% μετά την επεξεργασία της κονσερβοποίησης. Η τάση απώλειας βάρους που καταγράφηκε μετά την κάθε επεξεργασία, είναι αντίστοιχη με αυτή της σαρδέλας.



Σχήμα 15.11. Μεταβολή του βάρους (g) του γαύρου (σάρκα) πριν και μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Το βάρος δίνεται σε γραμμάρια (g). Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους.

Αντίστοιχα με τη μεταβολή του βάρους μελετήθηκε και η μεταβολή στο ποσοστό υγρασίας και τα αποτελέσματα δίνονται στο σχήμα 15.12. Όπως φαίνεται, το ποσοστό της υγρασίας ακολούθησε την ίδια τάση μείωσης, όπως και η παράμετρος του βάρους, παρουσιάζοντας απώλεια, τόσο μετά την θερμική επεξεργασία, όσο και μετά την κονσερβοποίηση. Η υγρασία του γαύρου μειώθηκε κατά 15% μετά την επεξεργασία της θέρμανσης και της κονσερβοποίησης. Τα ποσοστά μείωσης της υγρασίας στη σάρκα του γαύρου είναι αντίστοιχα με αυτά της σαρδέλας και η ομοιότητα αυτή αποδίδεται στη χρήση των ίδιων συνθηκών κατεργασίας, αλλά και σε ομοιότητες στη χημική σύσταση των δύο αλιευμάτων, τα οποία ανήκουν ως είδη στην ίδια οικογένεια. Η περαιτέρω στατιστική αξιολόγηση της μεταβολής του βάρους και της υγρασίας δίνεται στον πίνακα 15.10.



Σχήμα 15.12. Μεταβολή της περιεχόμενης υγρασίας (%) των δειγμάτων του γαύρου (σάρκα) πριν και μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους.

Όπως φαίνεται και από τη στατιστική ανάλυση, το βάρος και η υγρασία επηρεάστηκαν σημαντικά από την επεξεργασία των αλιευμάτων ($F_{\text{βάρος}}=399,38$, $P<0,05$ και $F_{\text{υγρασία}}=1133,83$, $P<0,05$). Σημαντικός είναι ο συντελεστής αλληλεπίδρασης των δύο παραμέτρων, ο οποίος δείχνει ότι οι δύο μεταβλητές: βάρος και υγρασία, αλληλεπιδρούν σε ποσοστό πάνω από 80% και άρα αιτιολογεί ότι η απώλεια βάρους συνδέεται κυρίως με την απώλεια υγρασίας κατά την επεξεργασία. Η σύγκριση κατά ζεύγη μεταξύ των διαφορετικών μορφών επεξεργασίας δεν έδωσε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του ψησίματος και της κονσερβοποίησης ($P>0,05$), από το οποίο συμπεραίνεται ότι τόσο το βάρος, όσο και η υγρασία μεταβλήθηκαν κυρίως στο στάδιο του ψησίματος. Οι σημαντικές μεταβολές στο βάρος και την υγρασία πραγματοποιήθηκαν μεταξύ του νωπού και του ψημένου ψαριού, παρατήρηση που έρχεται σε συμφωνία με τη συμπεριφορά του καδμίου στη σαρδέλα.

Πίνακας 15.10. (α) ανάλυση διακύμανσης για την επίδραση της επεξεργασίας στο βάρος και στην υγρασία του γαύρου, (β) σύγκριση κατά ζεύγη-Tukey test.

(α) Ανάλυση της διακύμανσης - ANOVA							
Πηγή διακύμανσης	Εξαρτημένη μεταβλητή	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	P	Βαθμός αλληλεπίδρασης
Επεξεργασία	βάρος	32.190,863	2	16.095,431	399,376	0,000	0,845
	υγρασία	4.363,692	2	2.181,846	1.133,829	0,000	0,939
Error	βάρος	5.924,310	147	40,301			
	υγρασία	282,875	147	1,924			
Total	βάρος	860.551,500	150				
	υγρασία	682.116,650	150				
Cor. Total	βάρος	38.115,173	149				
	υγρασία	4.646,567	149				

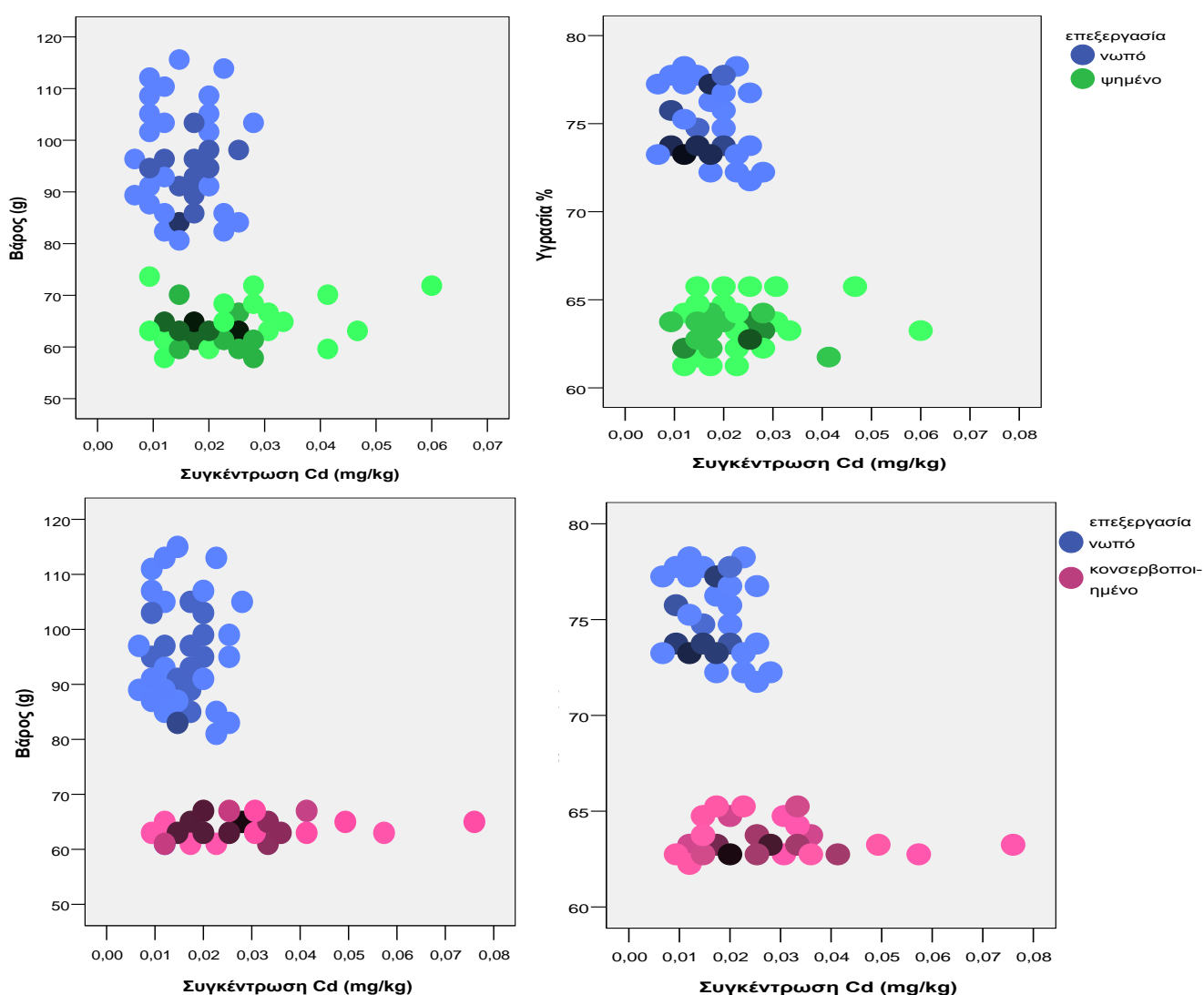
(β) Σύγκριση κατά ζεύγη-Tukey test					
Εξαρτημένη μεταβλητή	(I) επεξεργασία	(J) επεξεργασία	Διαφορά (I-J)	Τυπικό σφάλμα	P
βάρος	νωπό	ψημένο	31,128	1,2697	0,000
		κονσερβοποιημένο	31,024	1,2697	0,000
	ψημένο	νωπό	-31,128	1,2697	0,000
υγρασία	νωπό	κονσερβοποιημένο	-0,104	1,2697	0,996
		ψημένο	11,510	0,2774	0,000
	ψημένο	νωπό	11,510	0,2774	0,000
		κονσερβοποιημένο	-11,510	0,2774	0,000
		κονσερβοποιημένο	-0,138	0,2774	0,873

Για να πραγματοποιηθεί η διερεύνηση της πιθανής συσχέτισης μεταξύ της αύξησης του καδμίου και της μείωσης του βάρους ή της υγρασίας τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε περαιτέρω στατιστική ανάλυση συσχέτισης (πίνακας 15.11). Όπως και στη σαρδέλα, το κάδμιο στο γαύρο εμφάνισε σημαντική συσχέτιση, τόσο με το βάρος (συντελεστής συσχέτισης=-0,261), όσο και με την υγρασία (συντελεστής συσχέτισης=-0,307), ενώ όπως και στα αποτελέσματα της σαρδέλας, πολύ ισχυρή είναι η συσχέτιση μεταξύ βάρους και υγρασίας (0,618) κάτι που αποδεικνύει και στο γαύρο ότι η μείωση του βάρους κατά την επεξεργασία οφείλεται κατά κύριο λόγο στη μείωση της υγρασίας (σχηματικά στο σχήμα 15.13). Η συσχέτιση της συγκέντρωσης του καδμίου βρέθηκε αντίστροφη σε σχέση με το βάρος και με την υγρασία, δηλαδή το κάδμιο αυξάνεται, ενώ οι άλλες δύο παράμετροι μειώνονται κατά την επεξεργασία.

Πίνακας 15.11. Έλεγχος συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών (με χρήση του συντελεστή Spearman rho).

(γ) Έλεγχος συσχέτισης-συντελεστή Spearman						
		κάδμιο	βάρος	υγρασία		
Spearman's rho	κάδμιο	Correlation Coefficient	1,000	-0,261**	-0,307**	
		Sig. (2-tailed)	.	0,001	0,000	
	βάρος	Correlation Coefficient	-0,261**	1,000	0,618**	
		Sig. (2-tailed)	0,001	.	0,000	
	υγρασία	Correlation Coefficient	-0,307**	0,618**	1,000	
		Sig. (2-tailed)	0,000	0,000	.	

** Η συσχέτιση είναι σημαντική στο επίπεδο 0,01



Σχήμα 15.13. Διαγράμματα scatter plot συγκέντρωσης καδμίου, βάρους και υγρασίας κατά την επεξεργασία του ψησίματος και της κονσερβοποίησης στο γαύρο.

15.2.2. Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου

Στα δείγματα του γαύρου εξετάστηκε και η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου μετά την εφαρμογή της επεξεργασίας (α) ψησίματος και (β) βιομηχανικής κονσερβοποίησης. Κατόπιν της εφαρμογής του ψησίματος, η συγκέντρωση του μολύβδου στη σάρκα του γαύρου βρέθηκε $0,139 \pm 0,06$ mg/kg, ενώ οι τιμές στα δείγματα κυμάνθηκαν μεταξύ 0,048 και 0,337 mg/kg.

Σχετικά με τα δεδομένα για το οστό στον ψημένο γάυρο, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η συγκέντρωση του μολύβδου στο οστό κυμάνθηκε μεταξύ 0,180 έως 3,02 mg/kg, με μέσο όρο τα $1,154 \pm 0,49$ mg/kg. Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι η συγκέντρωση στο ψημένο οστό είναι σημαντικά αυξημένη σε σχέση με το νομοθετικό όριο για το μόλυβδο, το οποίο ξεπέραστηκε κατά 4 φορές (1,15 έναντι 0,3 mg/kg). Η σύγκριση των δύο διαφορετικών ιστών (σάρκα-οστό) έδειξε ότι το οστό συγκέντρωσε σημαντικά περισσότερο μόλυβδο από τη σάρκα, καθώς σημείωσε 8πλάσια ποσότητα στα ίδια δείγματα ψημένου ψαριού ($F=95,79$, $P<0,05$). Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με παρόμοιο πείραμα στο ψάρι *Tilapia nilotica*, το οποίο υπέστη θερμική επεξεργασία ψησίματος με ατμό και ψήσιμο, με το οστό να παρουσιάζει σημαντικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μολύβδου από τη σάρκα και κατά μέσο όρο να συγκεντρώνει 4πλάσια ποσότητα μολύβδου στο οστό σε σχέση με τη σάρκα (Atta et al., 1997).

Τα αποτελέσματα για τη συγκέντρωση μολύβδου στον ψημένο γάυρο δείχνουν ότι το μέταλλο παρουσίασε αυξημένες τιμές, με τον μέσο όρο να αγγίζει το 46% του νομοθετικού ορίου ασφαλούς κατανάλωσης και δύο δείγματα να το ξεπερνούν ($>0,3$ mg/kg). Για τον λόγο αυτό συνιστάται στενή παρακολούθηση για τον έλεγχο καταλληλότητας ψημένων αλιευμάτων γαύρου, ακόμα και όταν τα ίδια νωπά δείγματα δεν παρουσιάζουν τιμές που ξεπερνούν το όριο ασφάλειας της Ε.Ε.

Η σύγκριση των παρόντων αποτελεσμάτων και προγενέστερων ερευνητικών δεδομένων σε αλιεύματα που έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία ίδιου ή παρόμοιου τύπου έδειξαν ότι τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής βρίσκονται σε συμφωνία με τιμές μολύβδου σε ψημένα ψάρια των ειδών

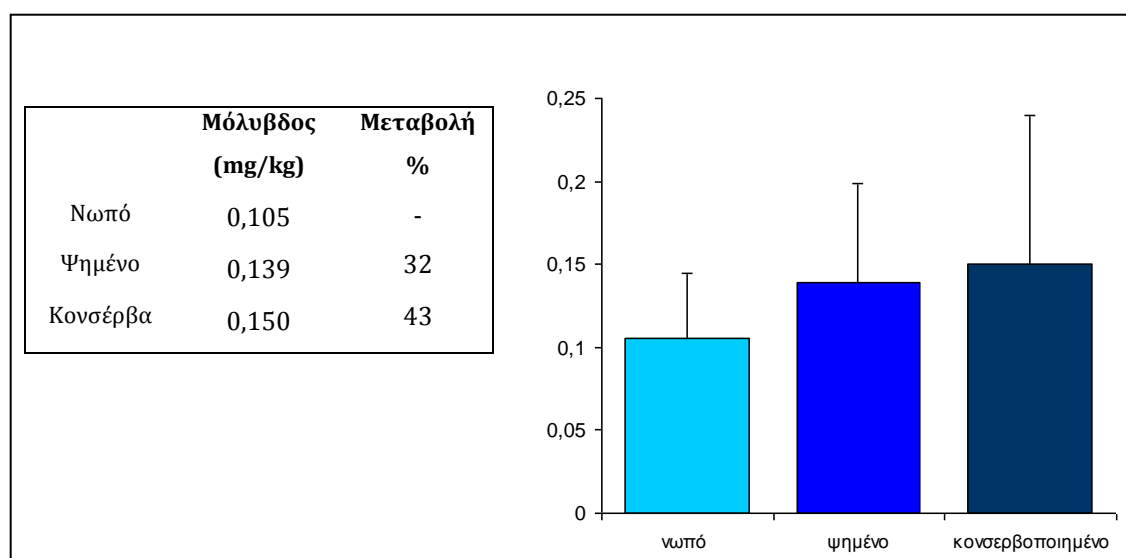
κέφαλος (Musaiger et al., 2008), *Tilapia nilotica* (Atta et al., 1997), λαβράκι (Ersoy et al., 2006), μαρίδα και σαρδέλα (Kalogeropoulos et al., 2012). Σε δείγματα από ψημένο ψάρι γάυρο της ελληνικής αγοράς έχουν καταγραφεί χαμηλότερες συγκεντρώσεις μολύβδου στα 0,07 mg/kg, με χρήση όμως πρώτης ύλης, όπου το μέταλλο προσδιορίστηκε κάτω από το όριο ανίχνευσης (Kalogeropoulos et al., 2012).

Κατά την εφαρμογή της κονσερβοποίησης, η συγκέντρωση του μολύβδου στη σάρκα του γαύρου βρέθηκε από 0,044 έως 0,432 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,150 \pm 0,09$ mg/kg. Σχετικά με τη συγκέντρωση μολύβδου στο οστό του κονσερβοποιημένου γαύρου, μια παράμετρο με ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς υπάρχει έλλειψη ερευνητικών δεδομένων στο θέμα αυτό, αλλά και επειδή το οστό καταναλώνεται μαζί με το υπόλοιπο ψάρι στις κονσέρβες γαύρου, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά τη κονσερβοποίηση η συγκέντρωση του μολύβδου κυμάνθηκε μεταξύ 0,49 έως 1,71 mg/kg, με μέσο όρο τα $1,30 \pm 0,4$ mg/kg. Όλα τα δείγματα οστού ξεπέρασαν το νομοθετικό όριο των 0,3 mg/kg. Σε προηγούμενες έρευνες δεν έχουν καταγραφεί δεδομένα για οστό σε κονσερβοποιημένο γάυρο. Η σύγκριση των επιπέδων μολύβδου των δύο διαφορετικών ιστών στο κονσερβοποιημένο προϊόν έδειξε ότι τα δείγματα του οστού παρουσιάζουν στατιστικά αυξημένες συγκεντρώσεις μολύβδου σε σχέση με τη σάρκα, με το οστό να συγκεντρώνει πάνω από 8 φορές περισσότερο μόλυβδο από τη σάρκα ($F=352,96$, $P<0,05$).

Σε ότι αφορά στη συγκέντρωση μολύβδου και στο όριο ασφαλείας της E.E. για τον κονσερβοποιημένο γάυρο, ο μέσος όρος των 0,15 mg/kg είναι στο μέσο του ορίου των 0,3 mg/kg, ενώ 4 από τα 50 δείγματα σημείωσαν τιμές άνω αυτού του ορίου (σημ. το όριο αναφέρεται σε νωπά ψάρια). Σχετικά με τη παρούσα μελέτη και προγενέστερα δημοσιευμένα αποτελέσματα, μια σχετική μελέτη σε κονσέρβες γαύρου δημοσίευσε παρόμοιες συγκεντρώσεις, μεταξύ 0,121-0,295 mg/kg (Mol, 2011), ενώ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (0,4 mg/kg) αναφέρθηκαν σε κονσέρβες γαύρου της αγοράς της Τουρκίας (Tuzen and Soyлак, 2007). Ομοίως σε κονσέρβες γαύρου της Τουρκίας, οι Çelik, and Oehlenschläger (2007) μελετώντας διαφορετικές μάρκες κονσερβοποιημένων προϊόντων βρήκαν μικρότερες συγκεντρώσεις μολύβδου, με τιμές κατά μέσο όρο $0,091 \pm 0,04$ mg/kg, αναλύοντας όμως το φιλέτο του γαύρου χωρίς το οστό.

Προγενέστερες έρευνες σε άλλα δημοφιλή κονσερβοποιημένα ψάρια, όπως τόνο, σολωμό και φρίσσα ανέφεραν υψηλότερες συγκεντρώσεις μολύβδου, μεταξύ 0,23-0,84 mg/kg (Ashraf et al., 2006; Tahán et al., 1995). Όπως και στη σαρδέλα, οι διαφορές μεταξύ των μελετών αποδίδονται σε αναλυτικές διαφορές, στα διαφορετικά είδη ψαριών που χρησιμοποιήθηκαν, στις διαφορετικές περιοχές και εποχή δειγματοληψίας, αλλά και σε διαφορές στο χρησιμοποιούμενο μέρος του ψαριού για την κάθε κονσερβοποίηση.

Προχωρώντας στη διερεύνηση της επίδρασης της επεξεργασίας στη συγκέντρωση μολύβδου του νωπού προϊόντος, πραγματοποιήθηκε συγκριτική διερεύνηση της συγκέντρωσης μολύβδου πριν και μετά την επεξεργασία του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Τα αποτελέσματα δίνονται στο σχήμα 15.14. Η συγκέντρωση του μολύβδου παρουσίασε αύξηση μετά το ψήσιμο και μετά την κονσερβοποίηση. Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση του μολύβδου στη σάρκα μεταβλήθηκε κατά 32% μετά το ψήσιμο και κατά 43% μετά την κονσερβοποίηση. Τόσο σχηματικά, αλλά και από τα ποσοστά μεταβολής του μέσου όρου, φαίνεται ότι, και στις δύο περιπτώσεις επεξεργασίας η συγκέντρωση του καδμίου κινήθηκε αυξητικά. Για να εξακριβωθεί αν ο βαθμός επίδρασης της επεξεργασίας ήταν σημαντικός, πραγματοποιήθηκε η ανάλογη στατιστική ανάλυση και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 15.12.



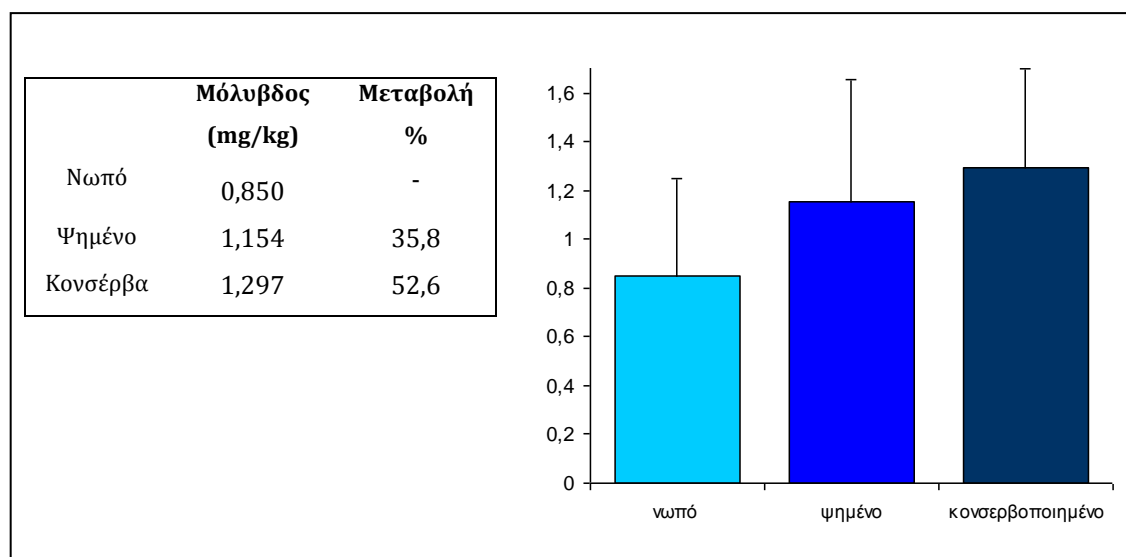
Σχήμα 15.14. Μεταβολή της συγκέντρωσης του μολύβδου στη σάρκα του γαύρου μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους (mg/kg).

Από την ανάλυση διακύμανσης (πίνακας 15.12) φαίνεται ότι η εφαρμογή της επεξεργασίας επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση του μολύβδου στη σάρκα του γαύρου ($F=6,281$, $P<0,05$). Η σύγκριση μεταξύ νωπού, ψημένου και κονσερβοποιημένου προϊόντος (Post Hoc test) έδειξε ότι και οι δύο τύποι επεξεργασίας επέφεραν σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του μολύβδου ($F_{\psi\eta\sigma.}=10,53$, $P<0,05$, $F_{\kappa\omicron\nu\sigma.}=11,11$, $P<0,05$). Το σημαντικότερο στάδιο επίδρασης της επεξεργασίας ήταν στο ψημένο προϊόν, όπου ο μόλυβδος αυξήθηκε κατά μέσο όρο κατά 32%, ενώ η διεργασία της κονσερβοποίησης έδωσε μια περαιτέρω αύξηση της τάξης του 11%. Η αύξηση του μολύβδου στη σάρκα του γαύρου ήταν σε παρόμοια επίπεδα με αυτή της σαρδέλας, επιβεβαιώνοντας ότι όπως και στο κάδμιο, οι ίδιες συνθήκες επεξεργασίας σε συνδυασμό με τη χρήση αλιευμάτων παρόμοιας σύστασης, οδηγεί στον ίδιο βαθμό επίδρασης της επεξεργασίας στη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων.

Πίνακας 15.12. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης (α) για την επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου στη σάρκα του γαύρου και (β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών τύπων επεξεργασίας. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

(α) Ανάλυση διακύμανσης -ANOVA					
	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντικότητα
Επεξεργασία	0,056	2	0,028	6,281	0,002
Error	0,650	147	0,004		
Total	3,291	150			
Corrected Total	0,705	149			
(β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (Post Hoc test)					
(I) επεξεργασία	(J) επεξεργασία	Διαφορά μέσων όρων	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα	
νωπό	ψημένο	-0,03413	0,013297	0,030	
	κονσερβοποιημένο	-0,04521	0,013297	0,002	
ψημένο	νωπό	0,03413	0,013297	0,030	
	κονσερβοποιημένο	-0,01108	0,013297	0,683	
κονσερβοποιημένο	νωπό	0,04521	0,013297	0,002	
	ψημένο	0,01108	0,013297	0,683	

Στη συνέχεια της πειραματικής μελέτης εξετάστηκε η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου στο οστό του γαύρου και τα αποτελέσματα φαίνονται στο σχήμα 15.15. Παρομοίως με τη σάρκα, η συγκέντρωση του μολύβδου στο οστό παρουσίασε αυξητική τάση μετά την εφαρμογή των δύο τύπων επεξεργασίας. Το ποσοστό αύξησης ήταν στα ίδια επίπεδα σε σχέση με τη σάρκα και βρέθηκε κατά μέσο όρο ίσο προς 35,8% μετά το ψήσιμο και 52,6% μετά την κονσερβοποίηση. Για να διερευνηθεί ο βαθμός επίδρασης της επεξεργασίας του ψησίματος και της κονσερβοποίησης, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση με τον ίδιο τρόπο, όπως στη σάρκα και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 15.13.



Σχήμα 15.15. Μεταβολή της συγκέντρωσης του μολύβδου (mg/kg) στο οστό του γαύρου μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους.

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων του οστού (πίνακας 15.13) έδειξε ότι μετά την επεξεργασία των αλιευμάτων σαρδέλας η αύξηση του μολύβδου ήταν στατιστικά σημαντική ($F=13,306$, $P<0,05$) και άρα η επεξεργασία επηρέασε τη συγκέντρωση του μολύβδου, τόσο στη σάρκα όσο και στο οστό του γαύρου. Για να διερευνηθεί περαιτέρω η επίδραση του κάθε διαφορετικού τύπου επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση διακύμανσης ανά ζεύγη (πίνακας 15.13), η οποία έδειξε ότι δεν υπάρχει καμιά στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στο ψημένο και το

κονσερβοποιημένο οστό, ενώ μόνο τα νωπά δείγματα επηρεάστηκαν σημαντικά και από τις δύο μορφές επεξεργασίας. Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι το σημαντικότερο στάδιο επεξεργασίας στο οποίο παρατηρείται η κυριότερη αύξηση του μολύβδου είναι το στάδιο του ψησίματος, ενώ η κονσερβοποίηση προκάλεσε περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του μολύβδου κατά 16,8%, χωρίς όμως να κρίνεται σημαντική η διαφορά μεταξύ ψησίματος και κονσερβοποίησης ($P>0,05$).

Πίνακας 15.13. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης (α) για την επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου στο οστό του γαύρου (β) και σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών τύπων επεξεργασίας. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

(α) Ανάλυση διακύμανσης -ANOVA					
	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντικότητα
Επεξεργασία	5,216	2	2,608	13,306	0,000
Error	28,814	147	0,196		
Total	215,489	150			
Corrected Total	34,030	149			

(β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (Post Hoc test)				
(I) επεξεργασία	(J) επεξεργασία	Διαφορά μέσων όρων	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα
νωπό	ψημένο	-0,3040	0,08855	0,002
	κονσερβοποιημένο	-0,4473	0,08855	0,000
ψημένο	νωπό	0,3040	0,08855	0,002
	κονσερβοποιημένο	-0,1433	0,08855	0,241
κονσερβοποιημένο	νωπό	0,4473	0,08855	0,000
	ψημένο	0,1433	0,08855	0,241

Για την εύρεση συσχέτισης μεταξύ των εξαρτημένων μεταβλητών που επηρεάστηκαν από την επεξεργασία, μελετήθηκε στατιστικά η πιθανή γραμμική συσχέτιση μεταξύ του καδμίου, μολύβδου, βάρους και της περιεχόμενης υγρασίας με βάση τον συντελεστή συσχέτισης Spearman (πίνακας 15.14). Ο μολύβδος παρουσίασε σημαντική αντίστροφη συσχέτιση με όλες τις υπόλοιπες μεταβλητές, όπως το βάρος (συντελεστής -0,261), και την υγρασία (συντελεστής συσχέτισης=-0,307) (σχήμα 15.16). Αντίστροφη συσχέτιση

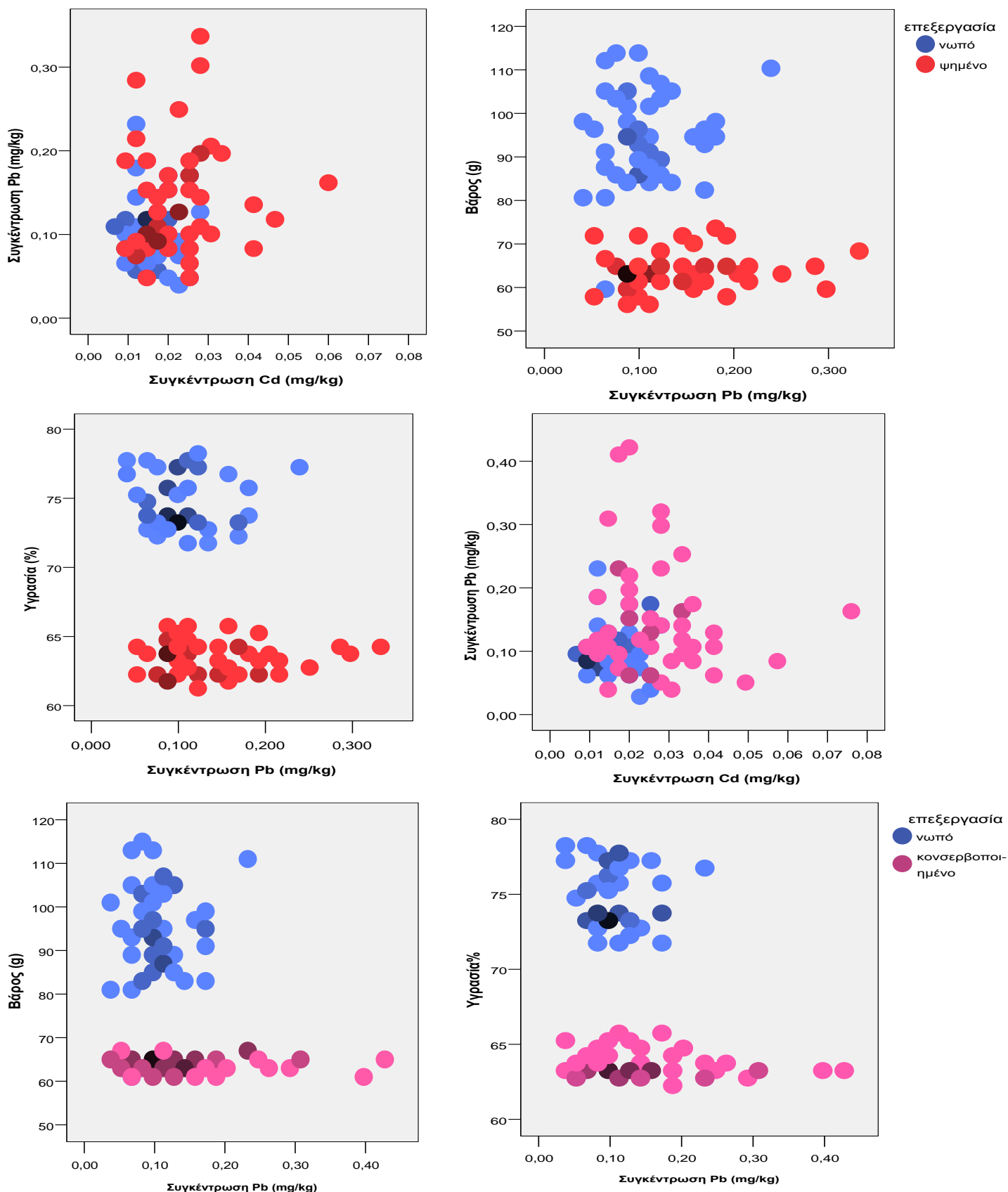
σημαίνει ότι όταν το βάρος και η υγρασία μειώνονται, ο μόλυβδος αυξάνεται. Σημαντικό εύρημα είναι η σημαντική θετική σχέση των δύο βαρέων μετάλλων (συντελεστής συσχέτισης=0,175), κάτι που δείχνει ότι υπάρχουν ομοιότητες στην συμπεριφορά των βαρέων μετάλλων κατά την επεξεργασία, όπως εντοπίστηκε και στη σαρδέλα. Θετική συσχέτιση σε επεξεργασμένα αλιεύματα έχει αναφερθεί για το κάδμιο και τον υδράργυρο σε αλίπαστα ψάρια της Νέας Ζηλανδίας (Bekhit et al., 2008).

Πίνακας 15.14. Έλεγχος συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών μόλυβδου-βάρους-υγρασίας-καδμίου (με χρήση του συντελεστή Spearman rho).

(γ) Έλεγχος συσχέτισης-συντελεστή Spearman						
			Κάδμιο	Μόλυβδος	βάρος	υγρασία
Spearman's rho	Κάδμιο	Correlation Coefficient	1,000	0,175*	-0,261**	-0,307**
		Sig. (2-tailed)	.	0,032	0,001	0,000
	Μόλυβδος	Correlation Coefficient	0,175*	1,000	-0,144	-0,239**
		Sig. (2-tailed)	0,032	.	0,079	0,003
	Βάρος	Correlation Coefficient	-0,261**	-0,144	1,000	0,618**
		Sig. (2-tailed)	0,001	0,079	.	0,000
	Υγρασία	Correlation Coefficient	-0,307**	-0,239**	0,618**	1,000
		Sig. (2-tailed)	0,000	0,003	0,000	.

* Η συσχέτιση είναι σημαντική στο επίπεδο 0,05

** Η συσχέτιση είναι σημαντική στο επίπεδο 0,01



Σχήμα 15.16. Διαγράμματα scatter plot συγκέντρωσης καδμίου, μολύβδου, βάρους και υγρασίας κατά την επεξεργασία του ψησίματος και της κονσερβοποίησης.

Κεφάλαιο 16. Το Νωπό Καλαμάρι

Loligo opalescens

16.1. Κάδμιο

Η ανάλυση του καδμίου πραγματοποιήθηκε (α) στη σάρκα (μανδύας, πτερύγια, πλοκάμια) (β) στο ολόκληρο (γ) στα εντόσθια και (δ) στη σηπία-οστό. Τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 16.1.

Πίνακας 16.1. (α) Τιμές καδμίου για τη σάρκα, ολόκληρο, εντόσθιο και σηπία του καλαμαριού και (β) σύγκριση σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη.

(α) τιμές καδμίου στο νωπό καλαμάρι <i>Loligo opalescens</i>				
Είδος δείγματος	Αριθμός δειγμάτων (N)	Cd (mg/kg) Μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	Εύρος τιμών	
Ολόκληρο	50	0,60±0,14	0,214-0,908	
Σάρκα	50	0,16 ±0,09	0,033-0,383	
Εντόσθια	50	2,0 ±0,6	1,059-3,894	
Σηπία	50	4,0 ±0,6	3,230-5,787	
(β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (Post Hoc test)				
(I) Είδος δείγματος	(J) Είδος δείγματος	Διαφορά μέσων όρων	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα
σάρκα	ολόκληρο	-0,439012	0,088330	0,000
	εντόσθιο	-1,817812	0,088330	0,000
	σηπία	-3,868612	0,088330	0,000
ολόκληρο	σάρκα	0,439012	0,088330	0,000
	εντόσθιο	-1,378800	0,087883	0,000
	σηπία	-3,429600	0,087883	0,000
εντόσθιο	σάρκα	1,817812(*)	0,088330	0,000
	ολόκληρο	1,378800(*)	0,087883	0,000
	σηπία	-2,050800(*)	0,087883	0,000
σηπία	σάρκα	3,868612(*)	0,088330	0,000
	ολόκληρο	3,429600(*)	0,087883	0,000
	εντόσθιο	2,050800(*)	0,087883	0,000

Το κάδμιο στη σάρκα του καλαμαριού βρέθηκε μεταξύ 0,033-0,383 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,16 \pm 0,09$ mg/kg. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το κάδμιο στη σάρκα του καλαμαριού βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα και αρκετά χαμηλότερα από το ισχύον νομοθετικό όριο της Ε.Ε. (1 mg/kg). Επομένως οι τιμές της παρούσας μελέτης δεν εμπνέουν ανησυχία για τοξικότητα καδμίου. Σχετικά με τη σύγκριση τιμών των αποτελεσμάτων και προγενέστερων ερευνητικών δεδομένων, οι τιμές του καδμίου που βρέθηκαν βρίσκονται γενικά σε συμφωνία με προηγούμενη μελέτη στο καλαμάρι *Loligo opalescens* (Falandysz, 1991), καθώς και με σχετική μελέτη στο καλαμάρι *Loligo forbesi* (Pierce et al., 2008). Σχετικά με άλλα είδη κεφαλόποδων, τα δεδομένα της παρούσας μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με αρκετές προγενέστερες μελέτες (Bustamante et al., 2000; Miramand and Bentley 1992; Pierce et al., 2008; Prafula et al., 2001). Βέβαια, έχουν καταγραφεί και υψηλότερες τιμές σε άλλα είδη κεφαλόποδων (Shiber 1981; Storelli and Marcotrigiano, 1999).

Σχετικά με τη συγκέντρωση καδμίου στο ολόκληρο καλαμάρι, οι τιμές βρέθηκαν μεταξύ 0,214-0,908 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,60 \pm 0,14$ mg/kg. Από τοξικολογική άποψη, ο μέσος όρος των αποτελεσμάτων του καδμίου βρίσκεται στο 60% του νομοθετικού ορίου της Ε.Ε. (1 mg/kg). Δε βρέθηκαν δείγματα που ξεπέρασαν το νομοθετικό όριο, αλλά ορισμένες τιμές ήταν κοντά στο 90% του ορίου αυτού, επομένως κρίνεται αναγκαία η τακτική παρακολούθηση της συγκέντρωσης καδμίου σε καλαμάρια του είδους αυτού, τα οποία μάλιστα προορίζονται να καταναλωθούν μαζί με τα εντόσθια. Οι τιμές του ολόκληρου καλαμαριού της παρούσας έρευνας βρίσκονται σε συμφωνία με προγενέστερη μελέτη στο ίδιο είδος (Falandysz, 1991) και στο καλαμάρι *Loligo forbesi* (Bustamante et al., 1998a), ενώ χαμηλότερες τιμές μεταξύ 0,1-0,37 mg/kg έχουν αναφερθεί σε άλλα είδη καλαμαριών της ίδιας οικογένειας (Bustamante et al., 1998a), καθώς και υψηλότερες τιμές στο καλαμάρι *Loligo duvauceli* και στο κεφαλόποδο *Nautilus nautilus* (Prafulla et al., 2001; Bustamante et al., 2000; Bustamante et al., 1998b).

Οι διαφορές στις συγκεντρώσεις του καδμίου οφείλονται σε μια σειρά από παράγοντες, όπως είναι το είδος, η εποχή δειγματοληψίας και η γεωγραφική περιοχή αλίευσης (Bustamante et al., 1998b). Έχει επίσης αναφερθεί ότι τα κεφαλόποδα που ζουν σε μεγάλο βάθος τείνουν να

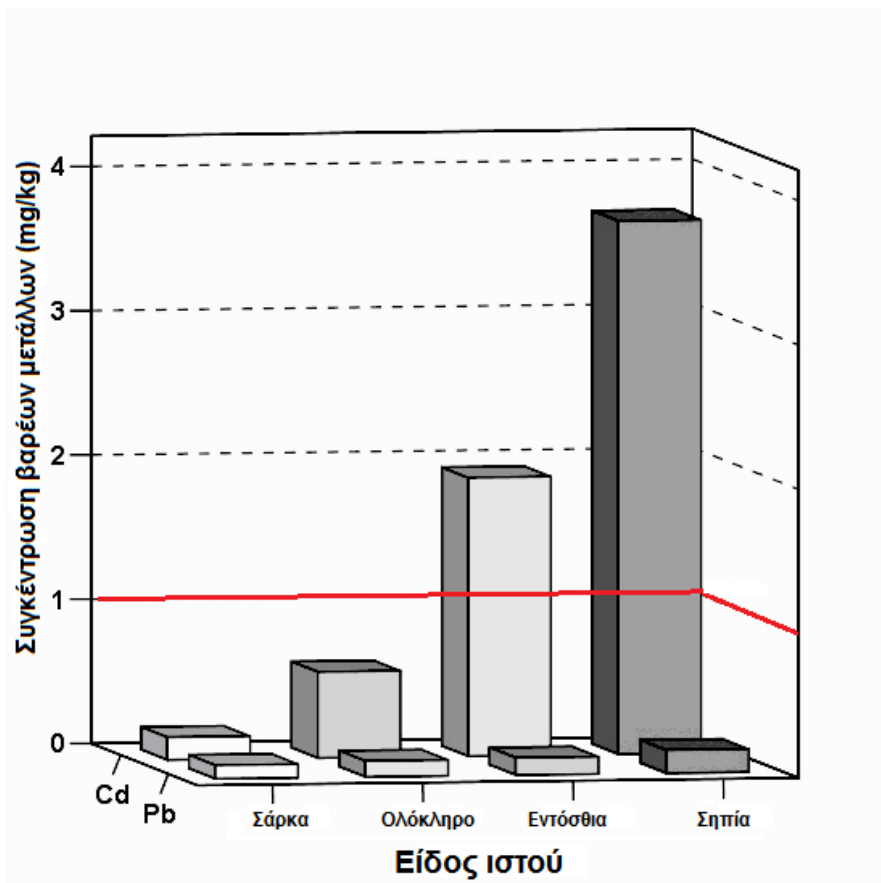
συσσωρεύουν μεγαλύτερα ποσά καδμίου σε σύγκριση με εκείνα στην επιφάνεια της θάλασσας (Storelli and Marcotrigianno, 1999). Μια άλλη σημαντική παράμετρος είναι οι διαιτητικές συνήθειες, καθώς η διατροφή παίζει σημαντικό ρόλο στη συσσώρευση του καδμίου. Τα μικρά καλαμάρια, όπως το καλαμάρι *Loligo opalescens*, διατρέφονται κυρίως από μικρά καρκινοειδή. Τα μεγαλύτερα καλαμάρια διατρέφονται από ψάρια, ενώ άλλα κεφαλόποδα, από δίθυρα μαλάκια και ψάρια του βυθού. Σε ορισμένα κεφαλόποδα συναντάται το φαινόμενο του κανιβαλισμού, το οποίο μπορεί να συμβάλει στη συσσώρευση καδμίου στον οργανισμό τους (Dorneles et al., 2007).

Ο τρίτος ιστός που εξετάστηκε για τη συγκέντρωση του καδμίου ήταν τα εντόσθια του καλαμαριού. Τα δεδομένα του πειράματος έδειξαν ότι τα εντόσθια συσσωρεύουν μεγάλες ποσότητες καδμίου. Πιο συγκεκριμένα, οι τιμές στα δείγματα κυμάνθηκαν μεταξύ 1,059-3,894, με μέσο όρο τα $2,0 \pm 0,6$ mg/kg. Από τα αποτελέσματα αυτά φαίνεται ότι τα εντόσθια συσσωρεύσαν τη μεγαλύτερη ποσότητα καδμίου στα εξεταζόμενα δείγματα, σε σχέση με τη σάρκα και το ολόκληρο καλαμάρι. Αυξημένες συγκεντρώσεις καδμίου στα εντόσθια έχουν καταγραφεί στη βιβλιογραφία για αρκετά είδη κεφαλόποδων (Bustamante et al., 2002; Storelli and Marcotrigiano 2004; Dorneles et al., 2007; Pierce et al., 2008).

Τα εντόσθια, ως μέσος όρος, ξεπέρασαν κατά δύο φορές το νομοθετικό όριο του καδμίου για την Ε.Ε. (1 mg/kg). Ορισμένα δείγματα ξεπέρασαν τρεις φορές το νομοθετικό όριο της Ε.Ε. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα εντόσθια σε αρκετά είδη κεφαλόποδων δεν αποτελούν εδώδιμο τμήμα και αφαιρούνται πριν την επεξεργασία (οικιακή ή βιομηχανική). Σε ορισμένα είδη όμως, όπως είναι και το καλαμάρι της παρούσας μελέτης, τα εντόσθια δεν αφαιρούνται πριν την επεξεργασία, καθώς αποτελούν εδώδιμο μέρος και σε πολλές περιπτώσεις προτιμούνται από τους καταναλωτές. Σε αυτές τις περιπτώσεις, οι τιμές καδμίου στα εντόσθια θα πρέπει να παρακολουθούνται σε τακτική βάση και να γίνονται συστάσεις για την αφαίρεσή τους πριν την επεξεργασία, εάν το συνολικό δείγμα ξεπερνά τα όρια της νομοθεσίας. Επιπλέον, σε περιπτώσεις που τα εντόσθια ξεπερνούν τα όρια της νομοθεσίας και η κατανάλωσή τους θα επιβαρύνει πολύ τη συνιστώμενη μέγιστη δόση κατανάλωσης καδμίου, θα πρέπει να γίνονται συστάσεις για την αποφυγή της κατανάλωσής τους, ιδιαίτερα σε ευπαθείς ομάδες όπως είναι οι έγκυες και τα μικρά παιδιά.

Εκτός από τα εδώδιμα μέρη του καλαμαριού, εξετάστηκε και η σηπία για πιθανή συγκέντρωση καδμίου. Ως μέσος όρος, το κάδμιο στη σηπία βρέθηκε στα $4,0 \pm 0,6$ mg/kg, με τις τιμές να κυμαίνονται μεταξύ 3,230 έως και 5,787 mg/kg. Όπως φαίνεται από τα δεδομένα, η σηπία συγκέντρωσε αυξημένες ποσότητες καδμίου. Η παρουσία καδμίου και γενικότερα βαρέων μετάλλων στη σηπία δεν έχει εξεταστεί ερευνητικά, καθώς δεν αποτελεί εδώδιμο ιστό. Σε μια προηγούμενη έκθεση για το καλαμάρι *Loligo opalescens*, βρέθηκε μέση περιεκτικότητα καδμίου 6,3 mg/kg, η οποία ήταν 30 φορές υψηλότερη από εκείνη στο μανδύα του καλαμαριού των ίδιων δειγμάτων (Falandysz, 1991). Υψηλότερα επίπεδα Cd παρατηρήθηκαν στη σηπία του καλαμαριού *Loligo patagonica*, κατά μέσο όρο 11 mg/kg (Falandysz, 1991). Επομένως, θα πρέπει να δοθεί η ανάλογη προσοχή στον ποιοτικό έλεγχο της σηπίας για παρουσία καδμίου, πριν από την παρασκευή συστατικών από σηπία, κάτι που πραγματοποιείται ήδη σε βιομηχανικό επίπεδο, λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας της σηπίας στην ουσία χιτοζάνη, έναν αμινο-πολυσακχαρίτη με εξαιρετικές διαιτητικές, αντιμικροβιακές και λειτουργικές ιδιότητες. Μια σχετική μελέτη πάνω στη δομή και χημικές ιδιότητες της χιτοζάνης από τη σηπία των καλαμαριών παρουσίασε τιμές καδμίου 8,1 mg/kg, τονίζοντας ότι κατά τη χρήση πρώτων υλών από σηπία για την παραγωγή χιτοζάνης θα πρέπει να ληφθούν υπόψη όλοι οι πιθανοί κίνδυνοι επιβάρυνσης βαρέων μετάλλων και ιδιαίτερα το κάδμιο (Chandumpai et al, 2004).

Στη συνέχεια της μελέτης πραγματοποιήθηκε σύγκριση μεταξύ των διαφορετικών ιστών του καλαμαριού και τα αποτελέσματα δίνονται στο σχήμα 16.1. Από το σχήμα φαίνεται χαρακτηριστικά ότι τα δείγματα ακολούθησαν την εξής κατατομή καδμίου: σηπία>>εντόσθια>ολόκληρο>>μανδύας. Η στατιστική ανάλυση μεταξύ των διαφορετικών ιστών πραγματοποιήθηκε με ANOVA και σύγκριση τιμών ανά ζεύγη (post hoc test) και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 16.1.(β).

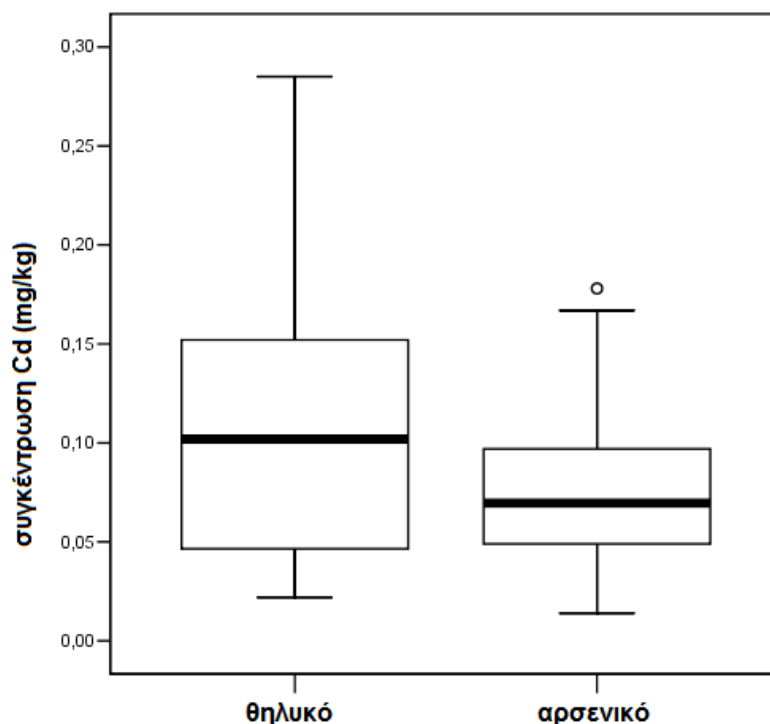


Σχήμα 16.1. Συγκέντρωση καδμίου-Cd και μολύβδου-Pb στους διαφορετικούς ιστούς του καλαμαριού *Loligo opalescens* (καλαμάρι Καλιφόρνιας). Με κόκκινο σημειώνεται το όριο της ευρωπαϊκής νομοθεσίας.

Η στατιστική ανάλυση έδειξε σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε όλους τους ιστούς καλαμαριού που εξετάστηκαν. Η σάρκα του καλαμαριού εμφάνισε τη μικρότερη συγκέντρωση, ενώ η σηπία τη μεγαλύτερη συγκέντρωση καδμίου. Είναι επίσης ιδιαίτερα ενδιαφέρον ότι το ολόκληρο καλαμάρι παρουσίασε πολλαπλάσια συγκέντρωση καδμίου από τη σάρκα. Πιο συγκεκριμένα, το ολόκληρο καλαμάρι εμφάνισε έως και πενταπλάσια συγκέντρωση καδμίου από τη σάρκα (σχήμα 16.1). Η μεγάλη αυτή διαφορά αποδίδεται στην παρουσία των εντοσθίων στο ολόκληρο καλαμάρι. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τα εντόσθια-πεπτικός αδένας αποτελεί τον κύριο ιστό αποθήκευσης για το κάδμιο στα κεφαλόποδα. Αυτή η θεωρία επαληθεύεται από τα παρόντα αποτελέσματα, με το μέσο όρο καδμίου 2,0 mg/kg στο σπλαχνικό μέρος να ξεπερνά πάνω από 3 φορές το κάδμιο στο ολόκληρο καλαμάρι και πάνω από 15 φορές τη μέση τιμή στη σάρκα του καλαμαριού.

Ο ρόλος της βιοσυσσώρευσης και αποτοξίνωσης για τον πεπτικό αδένα στα κεφαλόποδα έχει προταθεί σε αρκετές αναφορές (Bustamante et al., 2000; Bustamante et al., 2002; Falandysz, 1991; Miramand and Bentley 1992; Pierce et al., 2008, Storelli και Marcotrigiano 1999). Σύμφωνα με τις ερευνητικές μελέτες, ο πεπτικός αδένας αποτελεί ένα σημαντικό χώρο αποθήκευσης και το κύριο εργαλείο αποτοξίνωσης έναντι των πιθανών περιβαλλοντικών ρύπων και των τοξικών στοιχείων (Pierce et al, 2008). Τα εντόσθια μπορούν να συγκεντρώσουν πάνω από το 80% της συνολικής ποσότητας του Cd, Ag και Co και 40-80 % του συνολικού Mn, Ni, Pb και V (Miramand και Bentley, 1992). Τα όργανα που περιέχονται στα εντόσθια, όπως το συκώτι, τα νεφρά και το έντερο συμμετέχουν στην πρόσληψη, συσσώρευση, μεταβολισμό, αποτοξίνωση και αποβολή των βαρέων μετάλλων (Roesijadi, 1992). Έχει προταθεί επίσης ότι ολόκληρο το πεπτικό σύστημα παίζει ενεργό ρόλο στη διαχείριση των βαρέων μετάλλων από τον οργανισμό, καθώς δεσμεύοντας σημαντικές συγκεντρώσεις καδμίου αποτρέπει τις τοξικές επιδράσεις του καδμίου σε ζωτικές λειτουργίες του οργανισμού (Pierce et al., 2008; Prafulla et al., 2001; Storelli and Marcotrigianno, 1999; Falandysz, 1991).

Όπως προαναφέρθηκε, πολλοί και διαφορετικοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν τη συγκέντρωση καδμίου σε ένα κεφαλόποδο, όπως το καλαμάρι. Μια σημαντική παράμετρος που μπορεί να επιδράσει στη συσσώρευση του καδμίου είναι το φύλο του καλαμαριού. Για να διερευνηθεί η συσχέτιση συγκέντρωσης καδμίου και φύλου του καλαμαριού, έγινε στατιστική ανάλυση για τη μελέτη επίδρασης του φύλου του καλαμαριού στη συγκέντρωση καδμίου και βρέθηκε σημαντική επίδραση του φύλου στα δείγματα της σάρκας ($F=7,953$, $P<0,05$), με τα δείγματα, στα οποία υπερισχύει το θηλυκό φύλο να παρουσιάζουν αυξημένες συγκεντρώσεις καδμίου. Στο σχήμα 16.2. φαίνεται η κατανομή των δειγμάτων σάρκας ανάλογα με το φύλο του καλαμαριού. Όπως είναι φανερό και από το γράφημα, τα δείγματα όπου υπερισχύσε το θηλυκό φύλο παρουσίασαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καδμίου.



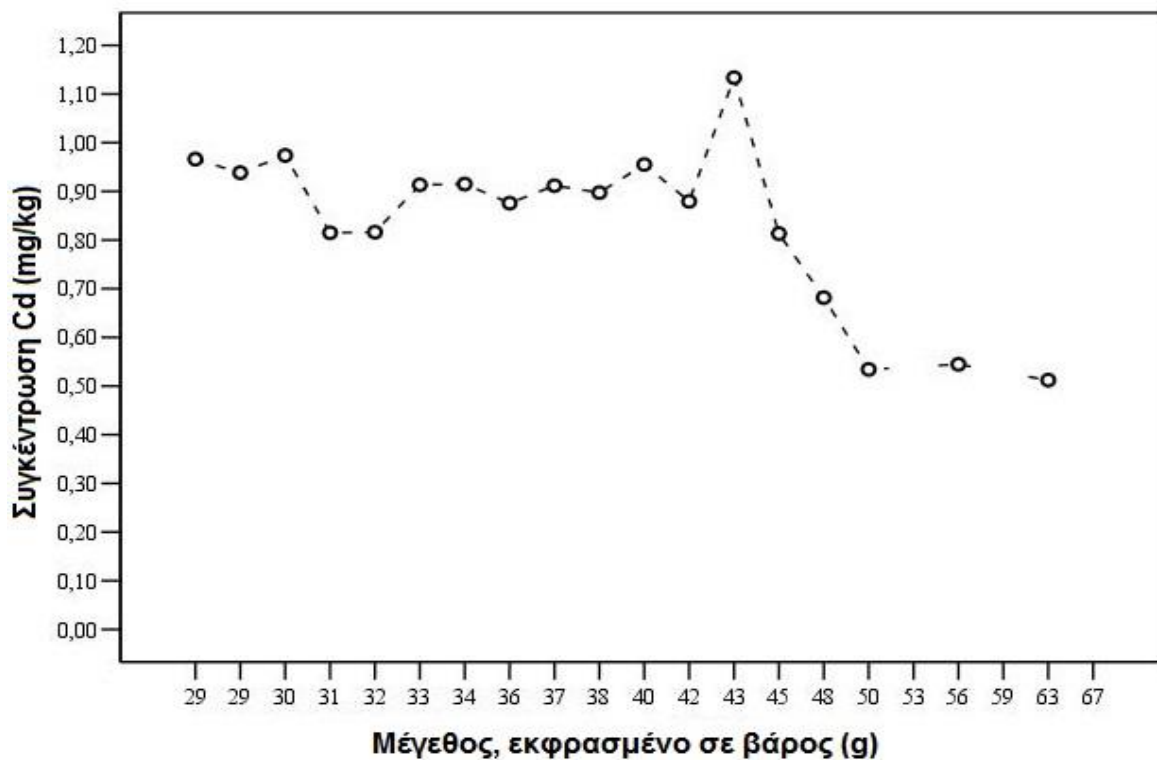
Σχήμα 16.2. Η σχέση συγκέντρωσης καδμίου και φύλου στη σάρκα του καλαμαριού.

Αναφορικά με τη βιβλιογραφία και τις έρευνες πάνω στη σχέση φύλου και συγκέντρωσης καδμίου, σε ορισμένα κεφαλόποδα έχει βρεθεί σημαντική συσχέτιση φύλου και συγκέντρωσης καδμίου (Bustamante et al., 2000; Pierce et al., 2008), όπου τα θηλυκά κεφαλόποδα εμφάνισαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καδμίου από τα αρσενικά. Η διαφορά αυτή αποδίδεται σε διαφορές στη φυσιολογία του αρσενικού και θηλυκού, όπως είναι ο αυξημένος ρυθμός μεταβολισμού στα θηλυκά κατά την περίοδο ωοτοκίας, το μεγαλύτερο γαστρεντερικό σύστημα των θηλυκών κ.ά. Σε ορισμένα κεφαλόποδα η αυξημένη συγκέντρωση καδμίου αποδίδεται επίσης στην παρουσία των αυγών στα θηλυκά, τα οποία μπορεί να συγκεντρώσουν κάδμιο στο κέλυφός τους (Sen and Sunly, 2007).

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει τη συγκέντρωση του καδμίου είναι το μέγεθος του καλαμαριού. Για να μελετηθεί η επίδραση του μεγέθους, στα δείγματα καταμετρήθηκε το μέσο βάρος του καλαμαριού σε γραμμάρια και έγινε η αντίστοιχη στατιστική ανάλυση για την επίδραση του βάρους στη συγκέντρωση του καδμίου. Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης έδειξαν ότι στα ολόκληρα καλαμάρια, το μέγεθος μπορεί

να επιδράσει στη συγκέντρωση του καδμίου ($F=2,359$, $P<0,05$). Στη σάρκα του καλαμαριού δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική επίδραση του μεγέθους ($F=1,282$, $P>0,05$). Σχηματικά, η σχέση μεγέθους και συγκέντρωσης καδμίου δίνεται στο σχήμα 16.3. Όπως φαίνεται και από το γράφημα, τα μικρότερα καλαμάρια παρουσίασαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καδμίου από τα μεγαλύτερα καλαμάρια. Μάλιστα, οι τιμές καδμίου τείνουν στο μέγιστο κοντά στο μέσο μέγεθος των 43 g, το οποίο αντιστοιχεί σε καλαμάρια κοντά στο στάδιο πλήρους ωριμότητας (FAO, 2006b) και μετά μειώνονται και σταθεροποιούνται στα καλαμάρια μεγαλύτερου μεγέθους (σχήμα 16.3).

Η βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση του μεγέθους στη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων και ειδικά του καδμίου είναι σχετικά περιορισμένη. Μια σχετική έρευνα σε χταπόδι αναφέρει σημαντική συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους και της συσσώρευσης καδμίου, με τα μικρότερα σε μέγεθος χταπόδια να συγκεντρώνουν υψηλότερες ποσότητες καδμίου (Storelli and Marcotrigianno, 1999). Μια μεταγενέστερη έρευνα σε καλαμάρια του είδους *Loligo forbesi* επίσης παρουσίασε αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ μεγέθους και συγκέντρωσης καδμίου (Pierce et al., 2008). Η αντίστροφη σχέση μεγέθους και συγκέντρωσης καδμίου αποδίδεται σε πολλούς παράγοντες, όπως είναι ο υψηλότερος ρυθμός μεταβολισμού που μπορεί να σχετίζεται με την ποσότητα καδμίου που προσλαμβάνεται από τον οργανισμό. Επιπλέον, σε πολλές περιπτώσεις τα μικρά κεφαλόποδα γεννιούνται σε παράκτιες περιοχές, στις οποίες παρατηρείται μεγαλύτερη ρύπανση από την ανοιχτή θάλασσα. Κατά τη διάρκεια ζωής τους, διαβιούν σε μεγαλύτερα βάθη και άρα σε ένα λιγότερο ρυπασμένο περιβάλλον, με αποτέλεσμα οι ποσότητες των βαρέων μετάλλων στα μεγαλύτερα σε μέγεθος κεφαλόποδα να παρουσιάζουν μείωση, σε αντίθεση με τα μικρά που διαβιώνουν στο παράκτιο περιβάλλον. Η διαιτητική συμπεριφορά επίσης παίζει σημαντικό ρόλο, καθώς μεταβάλλεται με την ηλικία και επομένως με το μέγεθος. Αναφέρεται ότι τα νεότερα και μικρότερα κεφαλόποδα διατρέφονται κυρίως με οστρακοειδή, ενώ τα μεγαλύτερα κεφαλόποδα περισσότερο με ψάρια, τα οποία συσσωρεύουν χαμηλότερες ποσότητες καδμίου (Canli and Atli, 2003).



Σχήμα 16.3. Η επίδραση του μεγέθους, εκφρασμένη σε βάρος (g) στη συγκέντρωση του καδμίου στο καλαμάρι του είδους *Loligo opalescens*.

16.2. Μόλυβδος

Αντίστοιχα με το κάδμιο, ο προσδιορισμός του μολύβδου πραγματοποιήθηκε (α) στη σάρκα (μανδύας, πτερύγια, πλοκάμια) (β) στο ολόκληρο (γ) στα εντόσθια και (δ) στη σηπία-οστό. Τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 16.2.

Πίνακας 16.2. (α) Τιμές μολύβδου για τη σάρκα, ολόκληρο, εντόσθιο και σηπία του καλαμαριού και (β) σύγκριση σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη.

(α) τιμές μολύβδου στο νωπό καλαμάρι <i>Loligo opalescens</i>					
Είδος δείγματος	Αριθμός δειγμάτων (N)	Pb (mg/kg) Μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	Εύρος τιμών		
Ολόκληρο	50	0,10 ± 0,08	0,036-0,303		
Σάρκα	50	0,09 ± 0,04	0,021-0,332		
Εντόσθιο	50	0,11 ± 0,09	0,031-0,379		
Σηπία	50	0,19 ± 0,06	0,114-0,325		
(β) σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (Post Hoc test)					
(I) Είδος δείγματος	(J) Είδος δείγματος	Διαφορά μέσων όρων	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα (P)	
σάρκα	ολόκληρο	-0,0132	0,01663	0,857	
	εντόσθιο	-0,0242	0,01663	0,466	
	σηπία	-0,0935	0,01663	0,000	
ολόκληρο	σάρκα	0,0132	0,01663	0,857	
	εντόσθιο	-0,0110	0,01663	0,911	
	σηπία	-0,0803	0,01663	0,000	
εντόσθιο	σάρκα	0,0242	0,01663	0,466	
	ολόκληρο	0,0110	0,01663	0,911	
	σηπία	-0,0693	0,01663	0,000	
σηπία	σάρκα	0,0935	0,01663	0,000	
	ολόκληρο	0,0803	0,01663	0,000	
	εντόσθιο	0,0693	0,01663	0,000	

Τα αποτελέσματα του μολύβδου έδωσαν μέσο όρο για τη σάρκα $0,09 \pm 0,04$ mg/kg, με τις τιμές να κυμαίνονται μεταξύ 0,021-0,332 mg/kg. Τα δεδομένα δείχνουν ότι ο μόλυβδος στη σάρκα του καλαμαριού βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα και αρκετά χαμηλότερα από τα όρια νομοθεσίας της Ε.Ε. (1 mg/kg). Επομένως, σύμφωνα με τα αποτελέσματα, από τοξικολογική άποψη για κατάλοιπα μολύβδου, η κατανάλωση αυτών των κεφαλόποδων κρίνεται ασφαλής. Σχετικά με τη σύγκριση τιμών των αποτελεσμάτων και

προγενέστερων ερευνητικών δεδομένων, οι τιμές του μολύβδου που καταγράφηκαν βρίσκονται γενικά σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες στο καλαμάρι *Loligo opalescens* και σε διαφορετικά είδη χταποδιών (Falandysz, 1991; Storelli et al., 2010). Σε άλλα είδη κεφαλόποδων έχουν καταγραφεί και διαφορετικές τιμές, χαμηλότερες μεταξύ 0,04-0,05 mg/kg (Manso et al., 2007; Storelli et al., 2010), αλλά και υψηλότερες μεταξύ 0,36-1,83 mg/kg (Manso et al., 2007; Prafulla et al., 2001; Storelli et al., 2012) κυρίως σε διαφορετικές γεωγραφικές ζώνες αλίευσης, όπως στην ανατολική Μεσόγειο και την Ινδία.

Σχετικά με τη συγκέντρωση μολύβδου στο ολόκληρο καλαμάρι, οι τιμές βρέθηκαν μεταξύ 0,036-0,303 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,10 \pm 0,08$ mg/kg. Τα δεδομένα της βιβλιογραφίας για τη συγκέντρωση του μολύβδου σε ολόκληρα κεφαλόποδα είναι πιο περιορισμένα από το κάδμιο. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο μόλυβδος βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα και περίπου 10 φορές χαμηλότερα από το όριο της Ε.Ε. (1 mg/kg). Επομένως οι τιμές της παρούσας μελέτης δεν εμπνέουν ανησυχία για τοξικότητα μολύβδου. Οι τιμές του ολόκληρου καλαμαριού βρίσκονται σε συμφωνία με προγενέστερη μελέτη στο ίδιο είδος (Falandysz, 1991), στο καλαμάρι *Loligo vulgaris* (Lourenço et al., 2009) και σε κεφαλόποδα των ειδών της οικογένειας Octopodidae και Sepiidae (Storelli et al., 2010). Υψηλότερες τιμές στα επίπεδα των 0,34-0,46 έχουν αναφερθεί στα είδη *Loligo patagonica* (Falandysz, 1989), καθώς και σε καλαμάρια αλιευμένα στην Ινδία (Prafulla et al., 2001).

Αναφορικά με τη συγκέντρωση μολύβδου στα εντόσθια, οι τιμές που καταγράφηκαν βρέθηκαν μεταξύ 0,031-0,379, με μέσο όρο τα $0,11 \pm 0,09$ mg/kg. Οι τιμές αυτές είναι σε συμφωνία με προγενέστερες μελέτες στο καλαμάρι *Loligo vulgaris* (Manso et al., 2007) και *Loligo duvaucel* (Prafulla et al., 2001). Υψηλότερες τιμές μεταξύ 0.5-2 mg/kg έχουν καταγραφεί σε άλλα κεφαλόποδα (Manso et al., 2007) και στο καλαμάρι Παταγονίας (Falandysz, 1989).

Οι διαφορές μεταξύ των μελετών μπορούν να αποδοθούν εκτός από τις αναλυτικές διαφοροποιήσεις σε περιβαλλοντικούς και φυσικοχημικούς παράγοντες. Έχει αναφερθεί ότι η κινητικότητα των βαρέων μετάλλων στο θαλασσινό νερό επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως το pH, τη σκληρότητα του νερού, την οργανική ύλη, τη θερμοκρασία και το διαλυμένο

οξυγόνο (AMAP, 1998). Είναι επίσης γνωστό ότι σε υδάτινα περιβάλλοντα, τα βαρέα μέταλλα απορροφούνται πιο εύκολα από τους οργανισμούς στην ελεύθερη ιοντική μορφή τους, ενώ η σύνδεσή τους με χλωριόντα στο θαλασσινό νερό επηρεάζει τη διαθεσιμότητά τους ως ελεύθερη ιοντική μορφή και ως εκ τούτου την τοξικότητά τους στους θαλάσσιους οργανισμούς. Επιπλέον, πολλά βαρέα μέταλλα και ιδιαιτέρως το κάδμιο συναντάται συχνά ως σύμπλοκο με ορισμένες οργανικές ενώσεις, τα οποία επηρεάζουν σημαντικά τη βιοδιαθεσιμότητά τους. Επίσης και η αυξημένη περιεκτικότητα σε οργανική ύλη του νερού μειώνει γενικά την πρόσληψη και τοξικότητα των βαρέων μετάλλων στους θαλάσσιους οργανισμούς (UNEP, 2010).

Η συγκέντρωση του μολύβδου στη σηπία του καλαμαριού κυμάνθηκε ανάμεσα στα 0,114 και 0,325 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,19 \pm 0,06$ mg/kg. Οι τιμές μολύβδου για τη σηπία στη βιβλιογραφία είναι αρκετά περιορισμένες. Σε παλαιότερη μελέτη σε καλαμάρι του ίδιου είδους έχουν καταγραφεί αρκετά υψηλότερες τιμές, μεταξύ 0,94-2,5 mg/kg (Falandysz, 1991), ενώ παρόμοια μελέτη του ίδιου ερευνητή στο καλαμάρι *Loligo patagonica* έδωσε ακόμα υψηλότερες τιμές, μεταξύ 3,8-4,8 mg/kg (Falandysz, 1990). Οι διαφορές μεταξύ των αποτελεσμάτων αποδίδονται κυρίως σε διαφοροποιήσεις στην περιοχή αλίευσης και εποχή δειγματοληψίας καθώς και οι δύο προγενέστερες μελέτες πραγματοποιήθηκαν αρκετά παλαιότερα και σε άλλη γεωγραφική ζώνη αλίευσης, καθώς και σε αναλυτικές διαφορές ανάμεσα στις μεθόδους που ακολουθήθηκαν.

Στο σχήμα 16.1. παρουσιάζεται η κατανομή του μολύβδου στους τέσσερις διαφορετικούς τύπους ιστών που εξετάστηκαν. Όπως φαίνεται και σχηματικά, η κατανομή του μολύβδου στους διαφόρους ιστούς δεν ακολούθησε το ίδιο προφίλ βιοσυσσώρευσης, όπως στην περίπτωση του καδμίου. Οι μέσες τιμές ήταν 0,09, 0,10, 0,11 και 0,19 mg/kg για τον μανδύα, ολόκληρο, εντόσθιο και σηπία αντίστοιχα, τιμές που φανερώνουν μια ομοιόμορφη κατανομή του μολύβδου, με την αναλογία που προκύπτει να είναι: σηπία>εντόσθιο=ολόκληρο=μανδύας. Όπως ήταν αναμενόμενο, η στατιστική αξιολόγηση με ανάλυση διακύμανσης για την επίδραση του ιστού στη συγκέντρωση του μολύβδου δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε μανδύα, ολόκληρα και εντόσθια ($F=0,93$, $P>0,05$). Η μόνη

στατιστικά σημαντική διαφορά που προέκυψε από τη στατιστική ανάλυση, σύμφωνα με τη σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (Post Hoc test) (πίνακας 16.2.) ήταν μεταξύ της σηπίας και των άλλων ιστών.

Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν καθαρά ότι ο μόλυβδος ακολουθεί ένα διαφορετικό προφίλ βιοσυσσώρευσης από το κάδμιο. Αυτή η παρατήρηση σχετίζεται άμεσα με το γεγονός ότι ο μόλυβδος δε συσσωρεύεται στον πεπτικό αδένα σε σύγκριση με άλλα μέταλλα, όπως ο Ag και το Cd που παρουσιάζουν περισσότερο από 80% συγκέντρωση στα εντόσθια, παρά στον μυϊκό ιστό των κεφαλόποδων. Κατά συνέπεια, ο τύπος και οι χημικές ιδιότητες του κάθε μετάλλου παίζουν καθοριστικό ρόλο στον τρόπο κατανομής και συσώρευσης του στον οργανισμό ενός κεφαλόποδου (Raimundo et al., 2004). Οι Miramand και Bentley (1992) κατέταξαν τα βαρέα μέταλλα σε τρεις κατηγορίες, σύμφωνα με την αναλογία συγκέντρωσης στον πεπτικό αδένα προς τη σάρκα: πρώτη κατηγορία: μικρή συγκέντρωση (αναλογία <10), δεύτερη κατηγορία: μεσαία συγκέντρωση (αναλογία 10-50), τρίτη κατηγορία: αυξημένη συγκέντρωση (>50). Σύμφωνα με τους ερευνητές, ο μόλυβδος βρίσκεται στην πρώτη κατηγορία και το κάδμιο στην τρίτη κατηγορία. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έρχονται σε συμφωνία με αυτή την κατηγοριοποίηση. Παρόμοιο προφίλ κατανομής έχει καταγραφεί και για τον υδράργυρο σε καλαμάρια (Falandysz, 1990; Pierce et al., 2008) και για τον μόλυβδο σε χταπόδια (Raimundo et al., 2004). Η γνώση αυτής της κατηγοριοποίησης είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την επεξεργασία τροφίμων, έτσι ώστε να επιλέγονται για κατανάλωση οι ιστοί με τη λιγότερη πιθανότητα συσώρευσης βαρέων μετάλλων και αντίστοιχα να αποφεύγονται οι ιστοί που έχουν την τάση να συσσωρεύουν τα βαρέα μέταλλα.

Σχετικά με την επίδραση των παραγόντων φύλου και μεγέθους στη συγκέντρωση του μολύβδου, δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε δείγματα διαφορετικού φύλου ή μεγέθους ($P < 0,05$). Η διαφορά μεταξύ των δύο μετάλλων σε σχέση με την επίδραση των παραμέτρων του φύλου ή του μεγέθους μπορεί να οφείλεται στη διαφορετική συμπεριφορά των βαρέων μετάλλων στο υδάτινο περιβάλλον. Ο μόλυβδος απορροφάται έντονα από τα ιζήματα και τα σωματίδια του εδάφους, σε αντίθεση με το κάδμιο, το οποίο εμφανίζει σχετικά χαμηλό επίπεδο συσώρευσης και καθίζησης

στο πυθμένα της θάλασσας. Επομένως, το κάδμιο εμφανίζει πολύ μεγαλύτερη κινητικότητα και έχει την ικανότητα να μεταφέρεται σε πολύ μεγαλύτερες ποσότητες και σε μεγάλες αποστάσεις στους ωκεανούς σε αντίθεση με μόλυβδο, που θεωρείται ένα βαρύ μέταλλο που καθιζάνει και συσσωρεύεται τοπικά στο έδαφος (UNEP, 2010). Σχετικές έρευνες πάνω σε κεφαλόποδα και διαφορετικές περιοχές δειγματοληψίας υποστηρίζουν αυτήν τη θεωρία, προτείνοντας ότι τα επίπεδα καδμίου μπορεί να αυξάνονται στην ανοιχτή θάλασσα σε σχέση με τις παράκτιες περιοχές (Dorneles et al., 2007).

Επιπλέον, όπως έχει προαναφερθεί υπάρχουν πάρα πολλοί και διαφορετικοί παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν τη συγκέντρωση και βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων σε ένα θαλάσσιο περιβάλλον. Οπότε για να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα ως προς την επίδραση παραγόντων, όπως το φύλο ή το μέγεθος, θα πρέπει να διεξαχθούν περισσότερες μελέτες σε εργαστηριακό επίπεδο και αυστηρά ελεγχόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες, έτσι ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι εξωτερικοί παράγοντες που μπορούν να μεταβάλουν σημαντικά τα ερευνητικά αποτελέσματα.

Η μελέτη για την πιθανή συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης καδμίου και μολύβδου στους τέσσερις διαφορετικούς ιστούς που εξετάστηκαν πραγματοποιήθηκε με στατιστικό έλεγχο συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών (με χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson). Δε βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των δύο μετάλλων ($P > 0,05$) σε κανένα από τους εξεταζόμενους ιστούς (σάρκα, εντόσθιο, ολόκληρο, σπηρία). Αυτό σημαίνει ότι τα βαρέα μέταλλα που εξετάστηκαν παρουσιάζουν διαφορετικό προφίλ και μηχανισμό βιοσυσσώρευσης, ανάλογα με τις χημικές τους ιδιότητες. Σχετικά με προγενέστερες αναφορές στη συσχέτιση των βαρέων μετάλλων στα κεφαλόποδα, παρόμοια μελέτη συσχέτισης μεταξύ απαραίτητων και βαρέων μετάλλων πραγματοποιήθηκε σε διαφορετικούς ιστούς χταποδιού, όπου τα αποτελέσματα δεν έδειξαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του καδμίου και του μολύβδου (Seixas et al., 2005).

Κεφάλαιο 17. Η επίδραση της επεξεργασίας στο καλαμάρι *Loligo opalescens*

17.1. Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου

Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του καδμίου μελετήθηκε μετά την εφαρμογή της επεξεργασίας (α) ψήσιματος και (β) βιομηχανικής κονσερβοποίησης. Τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 17.1.

Πίνακας 17.1. Η επίδραση της επεξεργασίας (ψήσιμο, κονσερβοποίηση) στη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων (Cd, Pb) στους διαφορετικούς ιστούς του καλαμαριού *Loligo opalescens*.

Είδος δείγματος	Αριθμός δειγμάτων (s)	Cd (mg/kg) M.O. ± SD*	Cd διακύμανση	Pb (mg/kg) M.O. ± SD*	Pb διακύμανση
Ολόκληρο					
νωπό	50	0,6 ± 0,1	0,214-0,908	0,10 ± 0,08	0,036-0,303
ψημένο	50	0,82 ± 0,27	0,373-1,828	0,17 ± 0,09	0,023-0,404
κονσέρβα	50	0,78 ± 0,15	0,529-1,139	0,17 ± 0,09	0,025-0,377
Μανδύας					
νωπό	50	0,16 ± 0,09	0,033-0,383	0,09 ± 0,04	0,021-0,332
ψημένο	50	0,53 ± 0,17	0,260-1,250	0,12 ± 0,09	0,029-0,374
κονσέρβα	50	0,48 ± 0,18	0,259-0,883	0,10 ± 0,08	0,041-0,343
Εντόσθιο					
νωπό	50	2,0 ± 0,6	1,059-3,894	0,11 ± 0,09	0,031-0,379
ψημένο	50	1,11 ± 0,47	0,449-2,010	0,11 ± 0,08	0,014-0,369
κονσέρβα	50	1,19 ± 0,57	0,214-2,659	0,11 ± 0,08	0,020-0,323
Σηπία					
νωπό	50	4,0 ± 0,6	3,230-5,787	0,19 ± 0,06	0,114-0,325
ψημένο	50	4,34 ± 0,51	3,441-5,978	0,21 ± 0,06	0,121-0,365
κονσέρβα	50	4,25 ± 0,64	3,365-5,670	0,22 ± 0,06	0,120-0,379
Υγρό πλήρωσης					
Πριν την κονσερβοπ.	25	ND		ND	
Μετά την κονσερβοπ.	25	0,04 ± 0,01	0,025-0,076	0,32 ± 0,13	0,098-0,562

* Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές για κάθε διαδικασία επεξεργασίας σημειώνονται με έντονα γράμματα (P <0,05).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά την εφαρμογή της επεξεργασίας του ψησίματος, η συγκέντρωση του καδμίου στο μανδύα του καλαμαριού κυμάνθηκε από 0,26-1,25 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,53 \pm 0,17$ mg/kg. Σύμφωνα με τα δεδομένα, ο μανδύας του καλαμαριού περιέχει αρκετή ποσότητα καδμίου, καθώς ο μέσος όρος καλύπτει το 50% του νομοθετικού ορίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης (1 mg/kg) για το κάδμιο στα νωπά κεφαλόποδα. Η μέση τιμή του καδμίου αυξήθηκε από 0,16 στα 0,53 mg/kg μετά από το ψήσιμο (πίνακας 17.1) και άρα σε σύγκριση με το νωπό προϊόν, οι τιμές του καδμίου σημείωσαν αύξηση 240%. Η στατιστική ανάλυση για την επίδραση της επεξεργασίας του ψησίματος επιβεβαίωσε τις σημαντικές διαφορές ανάμεσα στο νωπό και ψημένο ιστό του μανδύα ($F=189,71$, $P < 0,05$). Η αύξηση της συγκέντρωσης στο μανδύα πριν και μετά το ψήσιμο ήταν η υψηλότερη που παρατηρήθηκε ανάμεσα σε όλους τους ιστούς που εξετάστηκαν.

Στην περίπτωση των ολόκληρων καλαμαριών, η περιεκτικότητα σε κάδμιο αυξήθηκε επίσης μετά από το ψήσιμο. Οι τιμές που καταγράφηκαν κυμάνθηκαν μεταξύ 0,373-1,828 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,82 \pm 0,27$ mg/kg (πίνακας 17.1). Με βάση το ισχύον όριο για τα νωπά καλαμάρια, ο μέσος όρος για τη συγκέντρωση καδμίου στο ολόκληρο καλαμάρι βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα και κοντά στο 85% του ανώτατου ορίου της E.E. Η σύγκριση μεταξύ των δύο μέσων όρων στο ολόκληρο καλαμάρι (νωπό-ψημένο) έδειξε ότι μετά το ψήσιμο, παρουσιάστηκε αύξηση στη συγκέντρωση καδμίου σε ποσοστό 40%. Η στατιστική ανάλυση επιβεβαίωσε τη σημαντική επίδραση του ψησίματος στη συγκέντρωση του καδμίου στο ολόκληρο καλαμάρι ($F=28,74$, $P < 0,05$). Επομένως, σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τόσο στον μανδύα, όσο και στα ολόκληρα καλαμάρια, η συγκέντρωση του καδμίου αυξήθηκε σημαντικά μετά την εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας του ψησίματος.

Σχετικά με τα δεδομένα του καδμίου στο καλαμάρι μετά το ψήσιμο, αυτά είναι γενικά σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες σχετικά την επίδραση θερμικής επεξεργασίας σε διάφορα αλιεύματα. Πρόσφατη μελέτη σε καλαμάρι που υπέστη θερμική επεξεργασία με τηγάνισμα και ψήσιμο σε grill έδειξε ότι το κάδμιο αυξήθηκε κατά 44% μετά το τηγάνισμα και κατά 124% μετά το ψήσιμο (Kalogeropoulos et al., 2012). Οι Burger et al., (2003) σε έρευνα πάνω στην επίδραση του τηγανίσματος υψηλής θερμοκρασίας ανέφεραν αύξηση στη

συγκέντρωση υδραργύρου κατά 200% σε φιλέτο τόνου. Μια ακόμα έρευνα σε υδράργυρο και μαγείρεμα σε ψάρια έδειξε παρόμοια αύξηση, όπου η συγκέντρωση του υδραργύρου αυξήθηκε κατά 110-200%, ανάλογα με τη μορφή της θερμικής επεξεργασίας (Morgan et al., 1997). Σε μια άλλη σχετική μελέτη, οι Perelló et al., (2008) ανέφεραν σημαντική αύξηση σε αρσενικό και κάδμιο μετά την εφαρμογή κοινών οικιακών πρακτικών μαγειρέματος, ενώ παρόμοιο πείραμα σε ψάρια που μαγειρεύτηκαν συμβατικά, έδειξε αύξηση στη συγκέντρωση του υδραργύρου μετά το μαγείρεμα (Musaiger and D'Souza, 2008). Αύξηση στη συγκέντρωση αρσενικού μετά το μαγείρεμα παρατηρήθηκε σε καλαμάρι και δίθυρα μαλάκια που υποβλήθηκαν σε διάφορες μορφές ψησίματος (Devesa et al., 2001). Μια διαφορετική έρευνα πάνω σε τέσσερις μορφές μαγειρέματος (ψήσιμο, grill, τηγάνισμα, μικροκύματα) σε φιλέτα από το ψάρι λαβράκι έδειξε ότι το κάδμιο και το αρσενικό μπορούν να αυξηθούν μετά τη θερμική επεξεργασία, με το αρσενικό να σημειώνει, έως και 87%, αύξηση μετά την εφαρμογή θέρμανσης με μικροκύματα, ενώ το κάδμιο αύξηση κατά 10% μετά από θέρμανση σε grill (Ersoy et al., 2006). Από τα δεδομένα αυτά φαίνεται ότι η εφαρμογή θερμικής επεξεργασίας που περιλαμβάνει θέρμανση μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα ορισμένων βαρέων μετάλλων στα τελικά προϊόντα.

Σχετικά με τη συμπεριφορά του καδμίου στη σηπία του καλαμαριού, σε αντίθεση με τους άλλους ιστούς που εξετάστηκαν, η περιεκτικότητα σε κάδμιο δεν επηρεάστηκε από τη θερμική επεξεργασία, καθώς παρουσίασε τιμές παρόμοιες με το νωπό προϊόν (πίνακας 17.1). Οι τιμές καδμίου μετά το ψήσιμο ήταν πάλι υψηλές και κυμάνθηκαν μεταξύ 3,441-5,978 mg/kg, με μέσο όρο τα $4,34 \pm 0,51$ mg/kg. Σημειώνεται ότι η μέγιστη τιμή 5,978 mg/kg αποτελεί και την μεγαλύτερη συγκέντρωση καδμίου που καταγράφηκε σε όλα τα δείγματα της παρούσας μελέτης. Η στατιστική ανάλυση μεταξύ νωπού και ψημένου επιβεβαίωσε την έλλειψη στατιστικά σημαντικών διαφορών ανάμεσα στα δύο είδη δειγμάτων ($F=2,071$, $P>0,05$). Απ' όσο είναι γνωστό, δεν υπάρχουν προηγούμενα δεδομένα στην επίδραση της θερμικής επεξεργασίας στη σηπία του καλαμαριού. Από τα δεδομένα της παρούσας μελέτης προκύπτει ότι η συγκέντρωση του καδμίου δεν επηρεάζεται από τη θερμική επεξεργασία, πιθανώς, λόγω σταθερότητας στη δομή του συγκεκριμένου ιστού.

Προχωρώντας στην επεξεργασία των αποτελεσμάτων, στο εντόσθιο του καλαμαριού καταγράφηκε μια εντελώς διαφορετική τάση κατά την επίδραση της επεξεργασίας. Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση του καδμίου σε όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν μετά το ψήσιμο, όχι μόνο δεν αυξήθηκε όπως στο μανδύα και στο ολόκληρο καλαμάρι, αλλά αντιθέτως μειώθηκε αισθητά (πίνακας 17.1). Μετά την εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας, οι τιμές του καδμίου κυμάνθηκαν μεταξύ 0,449-2,010 mg/kg, με μέσο όρο τα $1,11 \pm 0,47$ mg/kg. Η αρχική συγκέντρωση του καδμίου μειώθηκε κατά μέσο όρο 45 % μετά το ψήσιμο. Η στατιστική ανάλυση για την επίδραση του ψησίματος στη συγκέντρωση του καδμίου στα εντόσθια υπέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στο νωπό και στο ψημένο ($F=58,56, P < 0,05$). Η αρχική μέση περιεκτικότητα 2,0 mg/kg μειώθηκε σε 1,11 mg/kg μετά από το ψήσιμο. Επομένως, είναι πιθανό ότι η επιβολή υψηλής θέρμανσης κατά το ψήσιμο να επάγει την απελευθέρωση του μέρους του καδμίου από το τμήμα των εντοσθίων του καλαμαριού, φαινόμενο που οδήγησε στη μείωση της συγκέντρωσης του καδμίου στα ψημένα δείγματα. Αυτή η υπόθεση εξετάστηκε στη συνέχεια της πειραματικής διεργασίας με τη μελέτη των μεταλλοθειονινών.

Ακόμα και μετά τη μείωση, η συγκέντρωση του καδμίου μετά το ψήσιμο παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα. Κατά μέσο όρο, το κάδμιο ξεπέρασε το νομοθετικό όριο των 1 mg/kg για νωπά κεφαλόποδα, αλλά αρκετά δείγματα βρέθηκαν πλέον εντός του ορίου αυτού, σε αντίθεση με τα νωπά δείγματα που ήταν όλα εκτός ορίου. Προηγούμενα δημοσιευμένα δεδομένα για τη μεταβολή της συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων σε εντόσθια κεφαλόποδων μετά το ψήσιμο είναι πολύ περιορισμένα, καθώς στα περισσότερα κεφαλόποδα οι ιστοί αυτοί αφαιρούνται πριν την επεξεργασία. Προηγούμενη μελέτη πάνω στα εντόσθια του ψαριού *Tilapia nilotica* κατέγραψε μείωση της συγκέντρωσης των μετάλλων Cd, Cu, Pb και Zn, μετά την εφαρμογή ψησίματος στον ατμό και ψησίματος στο φούρνο (Atta et al., 1997). Κατά την εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας, οι υψηλές θερμοκρασίες μπορούν να προκαλέσουν αλλαγές στις συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων, καθώς προκαλούν μετουσίωση και αποικοδόμηση των πρωτεϊνών φορέων των στοιχείων αυτών, η οποία εξαρτάται από τις συνθήκες θέρμανσης που εφαρμόζονται (Domingo et al., 2011).

Σχετικά με την εφαρμογή της επεξεργασίας της κονσερβοποίησης, η συγκέντρωση του καδμίου στο μανδύα του καλαμαριού παρουσίασε επίσης αύξηση (πίνακας 17.1) Η συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα κυμάνθηκε στην πρώτη δειγματοληψία μεταξύ 0,17-0,67 mg/kg και στη δεύτερη δειγματοληψία μεταξύ 0,259-0,883 mg/kg, με μέσο όρο στην πρώτη δειγματοληψία τα $0,47 \pm 0,16$ mg/kg και στη δεύτερη τα $0,48 \pm 0,18$ mg/kg. Σε σύγκριση με το νωπό καλαμάρι, ο μέσος όρος της συγκέντρωσης του καδμίου αυξήθηκε κατά 210% στο μανδύα. Η στατιστική επεξεργασία για την επίδραση της κονσερβοποίησης στη συγκέντρωση καδμίου στο μανδύα επιβεβαίωσε τη στατιστικά σημαντική αύξηση του καδμίου μετά την κονσερβοποίηση ($F=21,163$, $P<0,05$). Οι τιμές του καδμίου στο μανδύα των καλαμαριών βρίσκονται κοντά στις τιμές για τα ψημένα καλαμάρια. Η ομοιότητα αυτή επιβεβαιώθηκε και με ANOVA, καθώς οι διαφορές ανάμεσα στα ψημένα και κονσερβοποιημένα καλαμάρια κρίθηκαν ως μη σημαντικές (πίνακας 17.2). Αυτή η παρατήρηση δείχνει ότι και οι δύο μορφές επεξεργασίας παρουσίασαν παρόμοια επίδραση στα επίπεδα του καδμίου στη σάρκα. Έχοντας υπόψη ότι το ψήσιμο προηγείται της κονσερβοποίησης ως ενδιάμεσο στάδιο επεξεργασίας γίνεται αντιληπτό ότι το ψήσιμο αποτελεί το σημαντικότερο στάδιο επίδρασης στη συγκέντρωση του καδμίου κατά την επεξεργασία.

Τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης του καδμίου στα κονσερβοποιημένα καλαμάρια αντιστοιχούν στο 50% περίπου του νομοθετικού ορίου για τα νωπά προϊόντα, ενώ οι μέγιστες τιμές έφτασαν κοντά στο 90% του νομοθετικού ορίου, χωρίς όμως να το ξεπερνούν. Τα αποτελέσματα βρίσκονται σε συμφωνία με μελέτες σχετικά με τα κονσερβοποιημένα προϊόντα καλαμαριού που κονσερβοποιήθηκαν μαζί με το εντόσθιο, όπου το κάδμιο κατά την κονσερβοποίηση αυξήθηκε 3-4 φορές σε σχέση με το νωπό προϊόν (Falandysz, 1991; Falandysz, 1989). Σε σύγκριση με διαφορετικά προϊόντα αλιείας, οι Rasmunen and Morissey (2007) σε πείραμα κονσερβοποίησης φιλέτων τόνου ανέφεραν μια αύξηση κατά 23% στη συγκέντρωση υδραργύρου, ενώ οι Ganjani et al., (2010) ανέφεραν ότι η κονσερβοποίηση μπορεί να μειώσει τα επίπεδα του μολύβδου και του καδμίου, εφόσον προηγηθούν στάδια επεξεργασίας που προκαλούν απώλεια υδατοδιαλυτών στοιχείων που συνδέονται με τα μέταλλα, όπως είναι για παράδειγμα το βράσιμο σε νερό.

Πίνακας 17.2. Σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών για τους τρεις τύπους δειγμάτων καλαμαριού (μανδύας, ολόκληρο, εντόσθιο) και τις τιμές Cd στις τρεις μεθόδους επεξεργασίας (νωπό, ψημένο, κονσερβοποιημένο).

Post Hoc test	Επεξεργασία (I)	Επεξεργασία (J)	Διαφορά μέσων όρων (I-J)	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα P
Cd μανδύας	νωπό	ψημένο	-0,37301(*)	0,026959	0,000
		κονσερβοποιημένο	-0,32771(*)	0,026959	0,000
	ψημένο	νωπό	0,37301(*)	0,026959	0,000
		κονσερβοποιημένο	0,04530	0,026959	0,216
	κονσερβοποιημένο	νωπό	0,32771(*)	0,026959	0,000
		ψημένο	-0,04530	0,026959	0,216
Cd ολόκληρο	νωπό	ψημένο	-0,2284(*)	0,03940	0,000
		κονσερβοποιημένο	-0,1995(*)	0,03940	0,000
	ψημένο	νωπό	0,2284(*)	0,03940	0,000
		κονσερβοποιημένο	0,0289	0,03940	0,744
	κονσερβοποιημένο	νωπό	0,1995(*)	0,03940	0,000
		ψημένο	-0,0289	0,03940	0,744
Cd εντόσθιο	νωπό	ψημένο	0,8591(*)	0,11334	0,000
		κονσερβοποιημένο	0,7916(*)	0,11334	0,000
	ψημένο	νωπό	-0,8591(*)	0,11334	0,000
		κονσερβοποιημένο	-0,0675	0,11334	0,823
	κονσερβοποιημένο	νωπό	-0,7916(*)	0,11334	0,000
		ψημένο	0,0675	0,11334	0,823

Σχετικά με την εφαρμογή της επεξεργασίας της κονσερβοποίησης, η συγκέντρωση του καδμίου σε ολόκληρο το καλαμάρι παρουσίασε, όπως και στον μανδύα, αύξηση μετά την κονσερβοποίηση (πίνακας 17.1). Η συγκέντρωση του καδμίου κυμάνθηκε στην πρώτη δειγματοληψία μεταξύ 0,86-2,07 mg/kg και στη δεύτερη δειγματοληψία μεταξύ 0,529-1,139 mg/kg, με μέσο όρο στην πρώτη δειγματοληψία τα $1,15 \pm 0,30$ mg/kg και στη δεύτερη τα $0,78 \pm 0,15$ mg/kg. Σε σύγκριση με το νωπό καλαμάρι, ο μέσος όρος της συγκέντρωσης του καδμίου αυξήθηκε κατά 33% στο ολόκληρο. Η στατιστική επεξεργασία για την επίδραση της κονσερβοποίησης στη συγκέντρωση καδμίου επιβεβαίωσε τη στατιστικά σημαντική αύξηση του καδμίου μετά την κονσερβοποίηση ($F=44,367$, $P<0,05$). Οι τιμές του καδμίου για τα ολόκληρα κονσερβοποιημένα καλαμάρια βρέθηκαν κοντά στις τιμές για τα ψημένα καλαμάρια (πίνακας 17.1). Η ομοιότητα αυτή επιβεβαιώθηκε και στατιστικά, καθώς οι διαφορές ανάμεσα

στα ψημένα και κονσερβοποιημένα καλαμάρια κρίθηκαν ως μη σημαντικές (πίνακας 17.2). Επομένως, όπως και στο μανδύα των καλαμαριών, οι δύο τύποι επεξεργασίας είχαν παρόμοια αποτελέσματα στη συγκέντρωση του καδμίου.

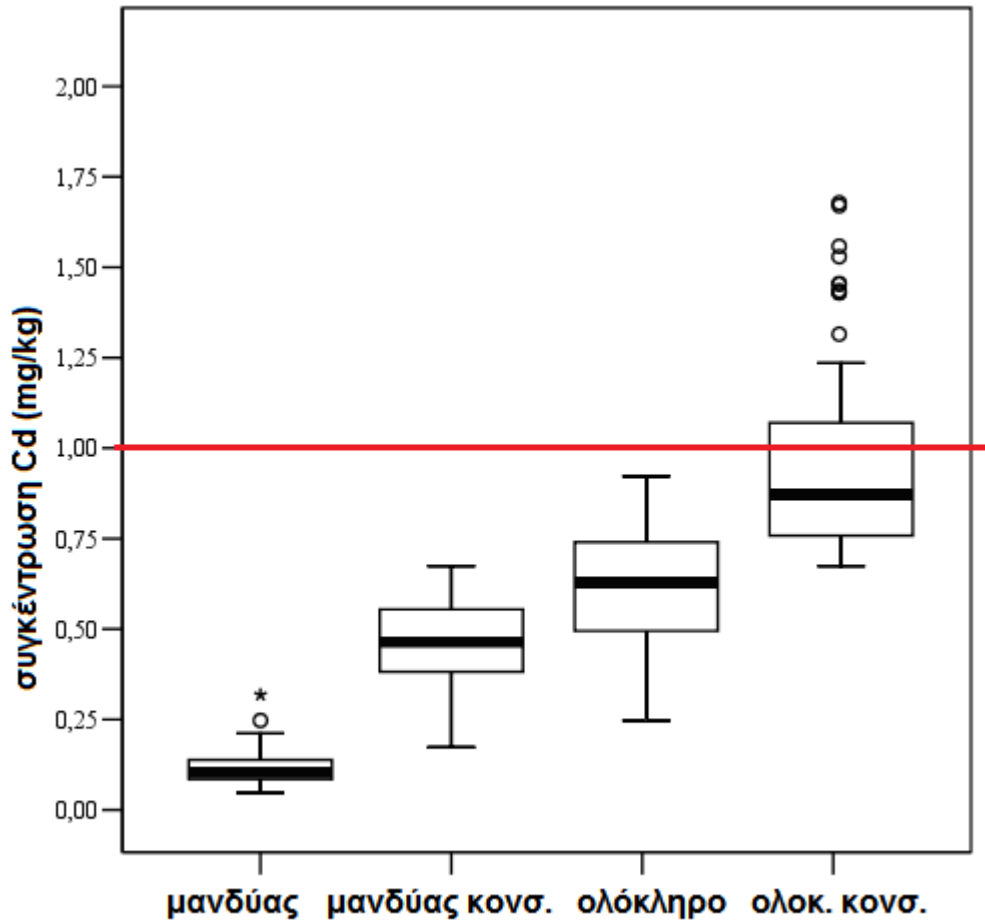
Οι τιμές καδμίου στα ολόκληρα κονσερβοποιημένα καλαμάρια αντιστοιχούν στο 50% περίπου του νομοθετικού ορίου για τα νωπά προϊόντα, ενώ ορισμένα δείγματα ξεπέρασαν το όριο αυτό. Σχετικά με τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της μελέτης και με προγενέστερη βιβλιογραφία, τα αποτελέσματα του πειράματος βρίσκονται σε συμφωνία με πειράματα σε κονσερβοποιημένα προϊόντα ολόκληρου καλαμαριού του ίδιου είδους και του είδους *Loligo patagonica*, τα οποία κονσερβοποιούνται μαζί με το εντόσθιο, με το κάδμιο να παρουσιάζει αύξηση 10-25% μετά την κονσερβοποίηση (Falandysz, 1991; Falandysz, 1989).

Όπως και μετά την επεξεργασία του ψησίματος, στο εντόσθιο του καλαμαριού μετά την κονσερβοποίηση καταγράφηκε μια εντελώς διαφορετική τάση από το μανδύα και το ολόκληρο καλαμάρι. Η συγκέντρωση του καδμίου σε όλα τα δείγματα εντοσθίου που εξετάστηκαν μειώθηκε αισθητά μετά την κονσερβοποίηση (πίνακας 17.1). Οι τιμές του καδμίου για το κονσερβοποιημένο καλαμάρι-εντόσθιο κυμάνθηκαν μεταξύ 0,214-2,659 mg/kg, με μέσο όρο τα $1,19 \pm 0,57$ mg/kg. Κατά μέσο όρο, η συγκέντρωση του καδμίου στο εντόσθιο μειώθηκε κατά 77% μετά την κονσερβοποίηση, καθώς μειώθηκε από 2,0 στο 1,19 κατά μέσο όρο (πίνακας 17.1). Η στατιστική επιβεβαίωσε τις στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στο νωπό και στο κονσερβοποιημένο εντόσθιο ($F=58,56$, $P<0,05$). Η εφαρμογή υψηλής θέρμανσης σε συνδυασμό με υψηλή πίεση κατά τη διεργασία της κονσερβοποίησης πιθανότατα προκάλεσε την απελευθέρωση του μέρους του καδμίου από το τμήμα των εντοσθίων του καλαμαριού, μειώνοντας έτσι τη συγκέντρωση του καδμίου στα κονσερβοποιημένα δείγματα. Η σύγκριση των δύο διαφορετικών επεξεργασιών με σύγκριση κατά ζεύγη έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικές διαφορές ανάμεσα στα ψημένα και στα κονσερβοποιημένα δείγματα του εντόσθιου (πίνακας 17.2), επομένως, όπως και στη σάρκα και στο ολόκληρο καλαμάρι, ο βαθμός επίδρασης των δύο επεξεργασιών ήταν παρόμοιος κατά το ψήσιμο και την κονσερβοποίηση.

Στα κονσερβοποιημένα δείγματα εντοσθίου, η συγκέντρωση του καδμίου παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα, αν και η απώλεια καδμίου, λόγω της επεξεργασίας ήταν σημαντική. Κατά μέσο όρο, το κάδμιο ξεπέρασε το νομοθετικό όριο του 1 mg/kg για νωπά κεφαλόποδα, αλλά αρκετά δείγματα βρέθηκαν κάτω από το όριο ασφαλείας της Ε.Ε. Προηγούμενα δημοσιευμένα δεδομένα για τη μεταβολή της συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων σε εντόσθια μετά την κονσερβοποίηση είναι αρκετά περιορισμένα. Δύο προγενέστερες μελέτες στα καλαμάρια *Loligo opalescens* και *Loligo patagonica* έδειξαν ότι η συγκέντρωση καδμίου μπορεί να μειωθεί μετά την κονσερβοποίηση, εμφανίζοντας μείωση στο τελικό προϊόν της τάξεως του 20-60%, ανάλογα με το είδος του καλαμαριού (Falandysz, 1991; Falandysz, 1989).

Σχετικά με τη συμπεριφορά του καδμίου στη σηπία του καλαμαριού, η περιεκτικότητα σε κάδμιο δεν επηρεάστηκε από την κονσερβοποίηση, καθώς παρουσίασε τιμές παρόμοιες με το νωπό προϊόν (πίνακας 17.1). Οι τιμές καδμίου μετά την κονσερβοποίηση κυμάνθηκαν μεταξύ 3,441-5,978 mg/kg, με μέσον όρο τα $4,25 \pm 0,64$ mg/kg. Η στατιστική ανάλυση μεταξύ νωπού και κονσερβοποιημένου επιβεβαίωσε την έλλειψη στατιστικά σημαντικών διαφορών ανάμεσα στα δύο είδη δειγμάτων ($F=1,546$, $P>0,05$).

Συνοπτικά, το προφίλ του μανδύα και του ολόκληρου καλαμαριού πριν και μετά την κονσερβοποίηση δίνεται στο σχήμα 17.1. Όπως φαίνεται χαρακτηριστικά, η αύξηση του καδμίου μετά την επεξεργασία μπορεί να οδηγήσει δείγματα που ήταν εντός του νομοθετικού ορίου πριν την κονσερβοποίηση εκτός των ορίων της νομοθεσίας, εφόσον τα νομοθετικά όρια εφαρμοστούν χωρίς την εφαρμογή των συντελεστών μεταποίησης, όπως άλλωστε ορίζει η νομοθεσία (Κανονισμός της Ε.Ε. 1881/2006, παράγραφος 5).

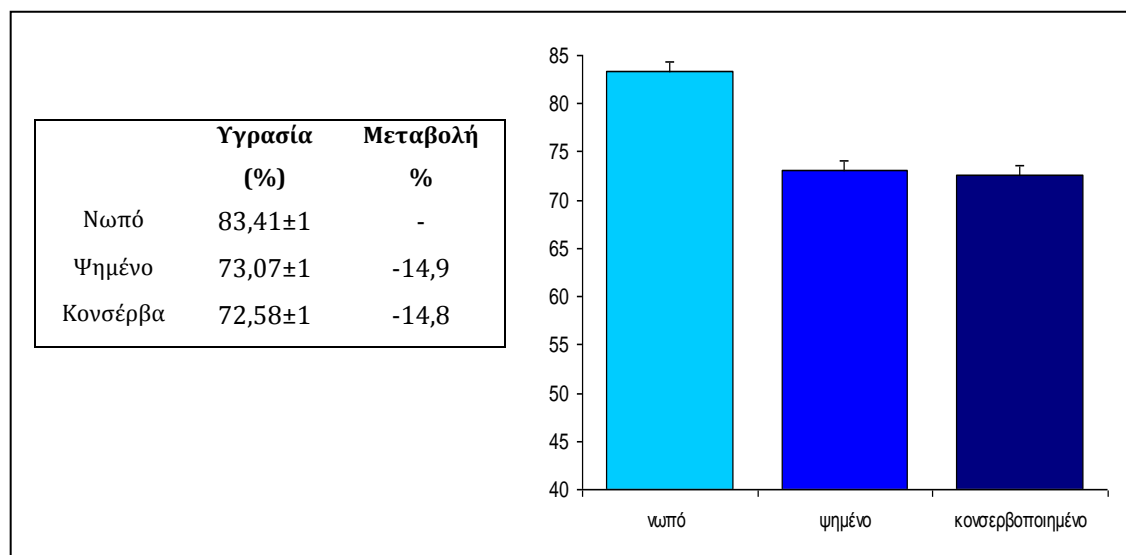


Σχήμα 17.1. Η συγκέντρωση του καδμίου στο μανδύα και στο ολόκληρο καλαμάρι πριν και μετά την κονσερβοποίηση. Με κόκκινο χρώμα το όριο της νομοθεσίας για τα νωπά κεφαλόποδα.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα συμπεραίνεται ότι οι μέθοδοι επεξεργασίας που περιλαμβάνουν τη θέρμανση ή/και υψηλή πίεση αναμένεται να αυξήσουν τα επίπεδα βαρέων μετάλλων στα τελικά προϊόντα. Είναι σημαντικό να διερευνηθούν περαιτέρω οι παράγοντες που εξηγούν την αύξηση του καδμίου στο μανδύα και στο ολόκληρο καλαμάρι και παράλληλα τη μείωση του καδμίου στα εντόσθια του καλαμαριού. Αρχικά πραγματοποιήθηκε καταμέτρηση του βάρους πριν και μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Βρέθηκε ότι μετά την εφαρμογή της κάθε επεξεργασίας το μέσο βάρος των δειγμάτων μειώθηκε κατά μέσον όρο 45-50%. Εφόσον η υγρασία αποτελεί το κύριο συστατικό του ιστού των κεφαλόποδων, στη συνέχεια υπολογίστηκε το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας πριν και μετά την

επεξεργασία και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο σχήμα 17.2. Όπως φαίνεται από τα δεδομένα του σχήματος, η υγρασία σημείωσε μείωση κατά την επεξεργασία της θέρμανσης και κατά την κονσερβοποίηση. Το ποσοστό απώλειας της υγρασίας κυμάνθηκε στο 15% κατά μέσον όρο στο ψήσιμο. Σε σύγκριση με το ψήσιμο, τα κονσερβοποιημένα δείγματα δεν έδειξαν περαιτέρω απώλεια υγρασίας, το οποίο αποδίδεται στο ερμητικό κλείσιμο των περιεκτών και στην πλήρωση των περιεκτών με άλμη, κάτι που δεν επέτρεψε την περαιτέρω μείωση της υγρασίας.

Σχήμα 17.2. Μεταβολή της περιεχόμενης υγρασίας (%) των δειγμάτων του καλαμαριού (ολόκληρο) πριν και μετά την εφαρμογή του ψησίματος και της κονσερβοποίησης. Οι τιμές απεικονίζουν μέσους όρους.



Για να αξιολογηθεί στατιστικά η επίδραση της επεξεργασίας στην περιεχόμενη υγρασία πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση μονοπαραγοντικής διακύμανσης και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 17.3. Όπως φαίνεται από τα δεδομένα, η υγρασία επηρεάστηκε σημαντικά από την επεξεργασία ($F_{υγρασία}=2320,408$, $P<0,05$). Η σύγκριση κατά ζεύγη μεταξύ των διαφορετικών μορφών επεξεργασίας δεν έδωσε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του ψησίματος και της κονσερβοποίησης ($P>0,05$), γεγονός από το οποίο συμπεραίνεται ότι η υγρασία μεταβλήθηκε σημαντικά στο στάδιο του ψησίματος, παρατήρηση που έρχεται σε συμφωνία με τη συμπεριφορά του καδμίου.

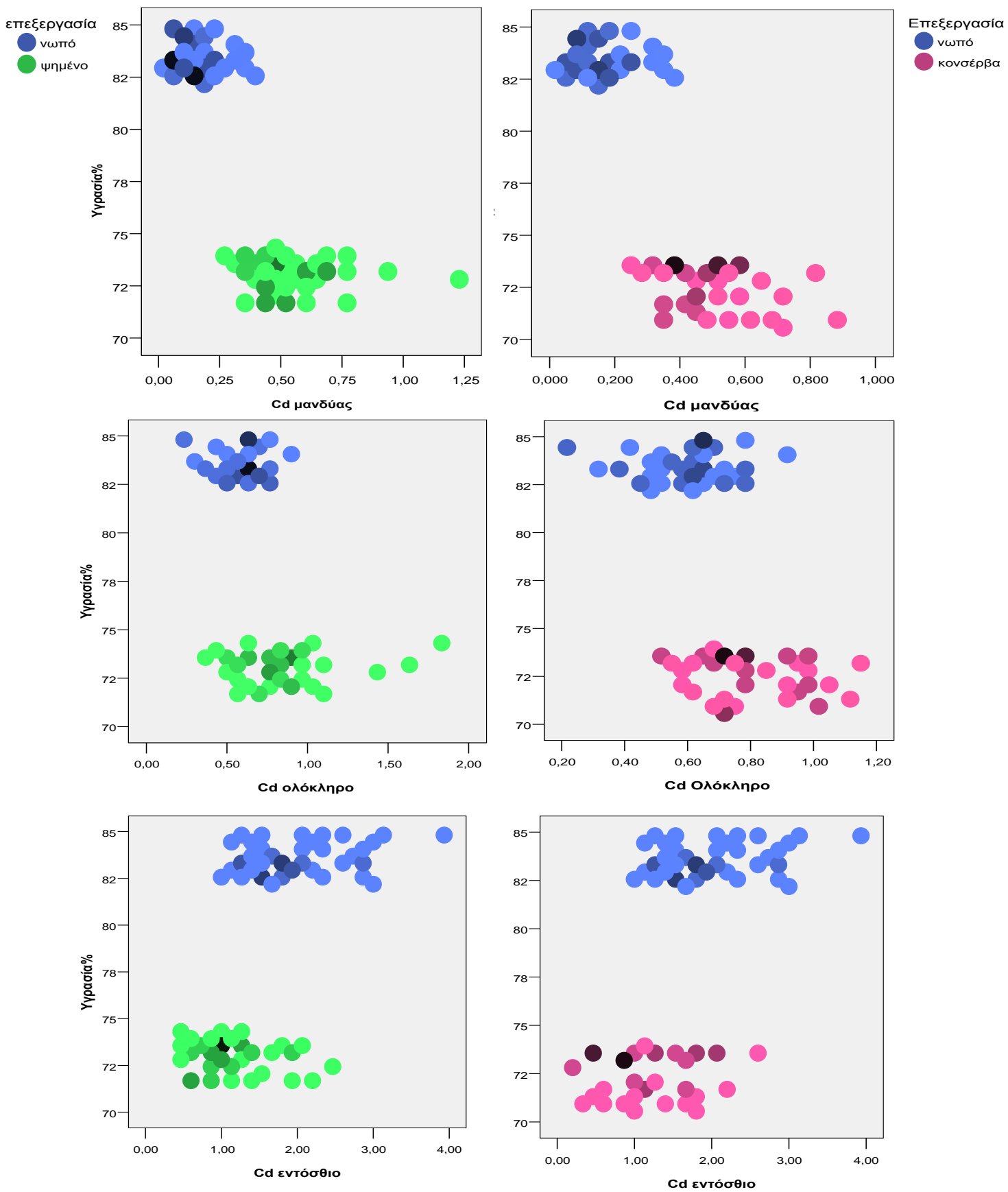
Πίνακας 17.3. (α) ανάλυση διακύμανσης για την επίδραση της επεξεργασίας στην υγρασία του καλαμαριού και (β) σύγκριση κατά ζεύγη-Tukey test.

(α) Ανάλυση της διακύμανσης - ANOVA						
Πηγή διακύμανσης	Εξαρτημένη μεταβλητή	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	P
Επεξεργασία	υγρασία	3739,848	2	1869,924	2320,408	0,000
Error		118,461	147	0,806		
Total		878360,626	150			
Cor. Total		3858,310	149			
(β) Σύγκριση κατά ζεύγη-Tukey test						
Εξαρτημένη μεταβλητή	(I) επεξεργασία	(J) επεξεργασία	Διαφορά (I-J)	Τυπικό σφάλμα	P	
υγρασία	νωπό	ψημένο	10,3385(*)	0,16578	0,000	
		κονσερβοποιημένο	10,5199(*)	0,16578	0,000	
	ψημένο	νωπό	-10,3385(*)	0,16578	0,000	
		κονσερβοποιημένο	0,1814	0,16578	0,519	

Η διερεύνηση της πιθανής συσχέτισης μεταξύ της αύξησης του καδμίου και της μείωσης της περιεχόμενης υγρασίας οδήγησε σε περαιτέρω στατιστική ανάλυση συσχέτισης μεταξύ του καδμίου στους διαφορετικούς ιστούς (μανδύας, ολόκληρο, εντόσθιο) και της υγρασίας (πίνακας 17.4). Το κάδμιο παρουσίασε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στους ιστούς, κάτι που σημαίνει ότι η μεταβολή του καδμίου στη σάρκα και το ολόκληρο καλαμάρι επηρεάζεται σημαντικά από τη μεταβολή του καδμίου στο εντόσθιο (-0,370**, -0,166*), ενώ και η απώλεια υγρασίας επηρεάζει τη μεταβολή στη συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα, ολόκληρο και εντόσθιο κατά την επεξεργασία (0,671**, 0,467**, 0,482**).

Πίνακας 17.4. Έλεγχος συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών Cd μανδύας, Cd ολόκληρο, Cd εντόσθιο και υγρασίας του καλαμαριού (με χρήση του συντελεστή Spearman rho).

		Cdμανδύας	Cd ολόκληρο	Cd εντόσθιο	Υγρασία
Cd μανδύας	Correlation Coefficient	1,000	0,590(**)	-0,370(**)	-0,671(**)
	Sig. (2-tailed)	.	0,000	0,000	0,000
Cd ολόκληρο	Correlation Coefficient	0,590(**)	1,000	-0,166(*)	-0,467(**)
	Sig. (2-tailed)	0,000	.	0,042	0,000
Cd εντόσθιο	Correlation Coefficient	-0,370(**)	-0,166(*)	1,000	0,482(**)
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,042	.	0,000
Υγρασία	Correlation Coefficient	-0,671(**)	-0,467(**)	0,482(**)	1,000
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,000	0,000	.



Σχήμα 17.3. Διαγράμματα scatter plot συγκέντρωσης καδμίου στη σάρκα-ολόκληρο-εντόσθιο και υγρασίας του καλαμαριού κατά την επεξεργασία του ψησίματος και της κονσερβοποίησης.

Όπως και στα ψάρια, η απώλεια υγρασίας είναι μία από τις κύριες παραμέτρους που εξηγεί την αύξηση της συγκέντρωσης του καδμίου μετά την επεξεργασία, καθώς η μείωση της υγρασίας οδηγεί σε μεγαλύτερη συγκέντρωση του καδμίου στο ψημένο ή κονσερβοποιημένο προϊόν. Η συσχέτιση μεταξύ μεταβολής βαρέων μετάλλων και απώλειας υγρασίας έχει προηγουμένως αναφερθεί σε σχετικές ερευνητικές μελέτες πάνω σε διάφορα προϊόντα θαλασσινών, όπως για παράδειγμα σε προϊόντα ψαριού και καλαμαριού μετά από ψήσιμο (Kalogeropoulos et al., 2012), κονσέρβες τόνου (Rasmussen και Morrissey, 2007), σε τηγανισμένο τόνο (Burger et al, 2003), μαγειρεμένα ψάρια όπως πέστροφα (Morgan et al., 1997), φιλέτα κυπρίνου σε ατμό και μικροκύματα (Forouzanfar et al., 2013), αλίπαστα ξηρού αλατισμού (Bekhit et al., 2008) αλλά και σε μαγειρεμένα θαλασσινά και αλίπαστα αλιεύματα (Devesa et al, 2001).

17.2. Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου

Η επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση του μολύβδου μελετήθηκε μετά την εφαρμογή της επεξεργασίας (α) ψησίματος και (β) βιομηχανικής κονσερβοποίησης. Τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 17.1. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά την εφαρμογή της επεξεργασίας του ψησίματος, η συγκέντρωση του μολύβδου στο μανδύα του καλαμαριού κυμάνθηκε από 0,260-1,250 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,12 \pm 0,09$ mg/kg. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο μολύβδος στο μανδύα του ψημένου καλαμαριού περιέχει μικρή ποσότητα μολύβδου, καθώς ο μέσος όρος βρίσκεται στο 11% του νομοθετικού ορίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης (1 mg/kg) για τα νωπά κεφαλόποδα. Η μέση τιμή του μολύβδου παρουσίασε μικρή άνοδο σε σχέση με το νωπό καλαμάρι. Η στατιστική ανάλυση για την επίδραση της επεξεργασίας του ψησίματος έδειξε ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση του μολύβδου ανάμεσα στα νωπά και ψημένα δείγματα ($F=0,72, P > 0,05$).

Στην περίπτωση των ολόκληρων καλαμαριών, η περιεκτικότητα σε μολύβδο έδειξε παρόμοια συμπεριφορά σε σχέση με τα δείγματα του μανδύα. Οι τιμές κυμάνθηκαν μεταξύ 0,023-0,404 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,12 \pm 0,09$ mg/kg (πίνακας 17.1). Με βάση το ισχύον όριο για τα νωπά καλαμάρια, ο μέσος όρος για τη συγκέντρωση καδμίου στο ολόκληρο καλαμάρι βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα και κοντά στο 11% του ανώτατου ορίου της Ε.Ε. Άρα ακόμα και μετά την επεξεργασία με ψήσιμο, η τοξικότητα του μολύβδου, τόσο για το μανδύα όσο και για το ολόκληρο καλαμάρι παραμένει σε χαμηλά επίπεδα. Η σύγκριση μεταξύ των δύο μέσων όρων στο ολόκληρο καλαμάρι (νωπό-ψημένο) έδειξε ότι μετά το ψήσιμο, παρουσιάστηκε μικρή αύξηση στη συγκέντρωση μολύβδου, σε ποσοστό 10%. Η στατιστική ανάλυση επιβεβαίωσε τη μη σημαντική επίδραση του ψησίματος στη συγκέντρωση του καδμίου στο ολόκληρο καλαμάρι ($F=0,244, P > 0,05$). Επομένως, σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τόσο στον μανδύα, όσο και στα ολόκληρα καλαμάρια, η συγκέντρωση του μολύβδου αυξήθηκε λίγο και στατιστικά μη σημαντικά μετά την εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας του ψησίματος.

Σχετικά με τα αποτελέσματα του ψησίματος και τον μόλυβδο στο καλαμάρι, αλλά και σε άλλα κεφαλόποδα, τα βιβλιογραφικά δεδομένα είναι σχετικά περιορισμένα, ενώ ανάμεσα στις διαφορετικές μελέτες δεν έχει καταγραφεί μια ενιαία τάση. Πρόσφατη μελέτη σε καλαμάρι που υπέστη θερμική επεξεργασία με ψήσιμο έδειξε ότι ο μόλυβδος αυξήθηκε σε μικρό ποσοστό, από $<0,04$ mg/kg (όριο ανίχνευσης) στο $0,04$ mg/kg (Kalogeropoulos et al., 2012). Μια διαφορετική μελέτη σε ψάρια και γαρίδες που είχαν υποστεί διάφορες μεθόδους θερμικής κατεργασίας δεν εντόπισε σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση του μολύβδου πριν και μετά το μαγείρεμα, εκτός από το τηγάνισμα στο ψάρι *Scomberomorus commerson*, στο οποίο καταγράφηκε ελαφριά αύξηση, η οποία και αποδόθηκε στη μείωση της υγρασίας (Musaiger and D'Souza, 2008). Μια ακόμη έρευνα σε μαγείρεμα στο ψάρι *Tilapia nilotica* έδειξε μείωση στη συγκέντρωση του μολύβδου ανάλογα με τη μορφή μαγειρέματος (Atta et al., 1997). Σε μια άλλη σχετική μελέτη, οι Perelló et al., (2008) ανέφεραν μείωση στη συγκέντρωση μολύβδου σε σαρδέλες και τόνο μετά από την εφαρμογή ψησίματος, ενώ στο ίδιο πείραμα αναφέρθηκε αύξηση του μολύβδου στο ψάρι βακαλάο, χωρίς όμως οι μεταβολές αυτές να είναι στατιστικά σημαντικές. Μια διαφορετική έρευνα στο ψάρι λαβράκι (Ersoy et al., 2006), έδειξε μείωση αλλά και αύξηση της συγκέντρωσης μολύβδου, ανάλογα με την εφαρμοζόμενη μέθοδο επεξεργασίας (ψήσιμο, μικροκύματα, τηγάνισμα, grill).

Σχετικά με τη συμπεριφορά του μολύβδου στη σηπία του καλαμαριού, η περιεκτικότητα σε μόλυβδο δεν επηρεάστηκε από τη θερμική επεξεργασία, καθώς παρουσίασε τιμές παρόμοιες με το νωπό προϊόν (πίνακας 17.1). Οι τιμές του μολύβδου μετά το ψήσιμο κυμάνθηκαν μεταξύ $0,121$ - $0,365$ mg/kg, με μέσο όρο τα $0,21 \pm 0,06$ mg/kg. Η στατιστική ανάλυση μεταξύ νωπού και ψημένου επιβεβαίωσε την έλλειψη στατιστικά σημαντικών διαφορών ανάμεσα στα δύο είδη δειγμάτων ($F=1,07$, $P>0,05$).

Η συγκέντρωση του μολύβδου στο εντόσθιο του καλαμαριού ακολούθησε ακριβώς την ίδια συμπεριφορά, όπως στο μανδύα και στα ολόκληρα καλαμάρια. Η συγκέντρωση του μετάλλου παρουσίασε παρόμοιες τιμές με το νωπό στο ψημένο καλαμάρι, με το μέσο όρο να βρίσκεται στα $0,11 \pm 0,08$ mg/kg και τις τιμές να κυμαίνονται μεταξύ $0,014$ - $0,369$ mg/kg. Η

στατιστική επεξεργασία επιβεβαίωσε την έλλειψη στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των νωπών και των ψημένων δειγμάτων ($F=0,014$, $P> 0,05$). Παρόμοιες έρευνες σχετικά με τα κεφαλόποδα είναι μάλλον σπάνιες, καθώς δεν έχει μελετηθεί διεξοδικά η συμπεριφορά των βαρέων μετάλλων στα εντόσθια κατά την επεξεργασία των θαλασσινών.

Σχετικά με την εφαρμογή της επεξεργασίας της κονσερβοποίησης, η συγκέντρωση του μολύβδου στο μανδύα του καλαμαριού παρουσίασε μια μικρή αύξηση (πίνακας 17.5) Η συγκέντρωση κυμάνθηκε μεταξύ 0,041-0,343 mg/kg, με μέσο όρο στα $0,10 \pm 0,08$ mg/kg. Σε σύγκριση με το νωπό καλαμάρι, ο μέσος όρος της συγκέντρωσης του μολύβδου αυξήθηκε κατά 6% στο μανδύα. Η στατιστική επεξεργασία για την επίδραση της κονσερβοποίησης στη συγκέντρωση μολύβδου στο μανδύα επιβεβαίωσε την έλλειψη στατιστικά σημαντικών διαφορών πριν και μετά την κονσερβοποίηση ($F=0,133$, $P>0,05$). Σχετικά με τη σύγκριση μεταξύ των δύο μορφών επεξεργασίας (ψήσιμο-κονσερβοποίηση), οι τιμές του μολύβδου στο μανδύα των κονσερβοποιημένων καλαμαριών βρίσκονται κοντά στις τιμές για τα ψημένα καλαμάρια. Η ομοιότητα αυτή επιβεβαιώθηκε και με ANOVA, καθώς οι διαφορές ανάμεσα στα ψημένα και κονσερβοποιημένα καλαμάρια κρίθηκαν ως μη σημαντικές (πίνακας 17.5). Αυτή η παρατήρηση δείχνει ότι και οι δύο μορφές επεξεργασίας παρουσίασαν παρόμοια επίδραση στα επίπεδα του μολύβδου.

Οι τιμές του μολύβδου στα κονσερβοποιημένα καλαμάρια αντιστοιχούν σε λιγότερο από 12% του νομοθετικού ορίου για τα νωπά προϊόντα, ενώ καμιά τιμή δεν ξεπέρασε το 50% του νομοθετικού ορίου για τα νωπά καλαμάρια (πίνακας 17.1). Τα αποτελέσματα του πειράματος βρίσκονται σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες σχετικά με τα κονσερβοποιημένα προϊόντα καλαμαριού του *Loligo opalescens* (Falandysz, 1991). Σε παρόμοια κονσερβοποιημένα προϊόντα του καλαμαριού *Loligo patagonica* αναφέρθηκαν και μεγαλύτερες τιμές μολύβδου μεταξύ 0,13-0,54 mg/kg, αν και η διακύμανση ανάμεσα στα δείγματα ήταν μεγάλη (Falandysz, 1989).

Πίνακας 17.5. Σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών στη συγκέντρωση μολύβδου για τους τρεις τύπους δειγμάτων καλαμαριού (μανδύας, ολόκληρο, εντόσθιο) και τις εφαρμοζόμενες μεθόδους επεξεργασίας (νωπό, ψημένο, κονσερβοποιημένο) σε ομάδες ανά ζεύγη. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Post Hoc test	Επεξεργασία (I)	Επεξεργασία (J)	Διαφορά μέσων όρων (I-J)	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα P
Pb μανδύας	νωπό	ψημένο	-0,0206	0,01755	0,472
		κονσερβοποιημένο	-0,0064	0,01755	0,929
	ψημένο	νωπό	0,0206	0,01755	0,472
		κονσερβοποιημένο	0,0142	0,01755	0,699
	κονσερβοποιημένο	νωπό	0,0064	0,01755	0,929
		ψημένο	-0,0142	0,01755	0,699
Pb ολόκληρο	νωπό	ψημένο	-0,0105	0,01771	0,825
		κονσερβοποιημένο	-0,0110	0,01771	0,810
	ψημένο	νωπό	0,0105	0,01771	0,825
		κονσερβοποιημένο	-0,0005	0,01771	1,000
	κονσερβοποιημένο	νωπό	0,0110	0,01771	0,810
		ψημένο	0,0005	0,01771	1,000
Pb εντόσθιο	νωπό	ψημένο	0,0027	0,01707	0,986
		κονσερβοποιημένο	0,0021	0,01707	0,992
	ψημένο	νωπό	-0,0027	0,01707	0,986
		κονσερβοποιημένο	-0,0007	0,01707	0,999
	κονσερβοποιημένο	νωπό	-0,0021	0,01707	0,992
		ψημένο	0,0007	0,01707	0,999

Σχετικά με την εφαρμογή της επεξεργασίας της κονσερβοποίησης, η συγκέντρωση του μολύβδου σε ολόκληρο το καλαμάρι παρουσίασε, όπως και στο μανδύα ελάχιστη αύξηση μετά την κονσερβοποίηση (πίνακας 17.1). Η συγκέντρωση του μολύβδου κυμάνθηκε μεταξύ 0,025-0,377 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,17 \pm 0,09$ mg/kg. Σε σύγκριση με το νωπό καλαμάρι, ο μέσος όρος της συγκέντρωσης μολύβδου αυξήθηκε κατά 10% μετά την κονσερβοποίηση. Η στατιστική επεξεργασία για την επίδραση της κονσερβοποίησης στη συγκέντρωση του μολύβδου δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα νωπά και κονσερβοποιημένα δείγματα ($F=0,397$, $P>0,05$). Είναι χαρακτηριστικό ότι τόσο τα ψημένα, όσο και τα κονσερβοποιημένα ολόκληρα καλαμάρια έδωσαν ακριβώς την ίδια τιμή του μέσου όρου, 0,116 mg/kg

(πίνακας 17.1). Η ομοιότητα αυτή επιβεβαιώθηκε και στατιστικά. Επομένως, όπως και στο μανδύα των καλαμαριών, οι δύο τύποι επεξεργασίας είχαν παρόμοια αποτελέσματα στη συγκέντρωση του μολύβδου.

Οι τιμές του μολύβδου που αντιστοιχούν στα ολόκληρα κονσερβοποιημένα καλαμάρια βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα τοξικότητας, όπως και στο νωπό προϊόν. Σχετικά με τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της μελέτης και με προγενέστερη βιβλιογραφία, τα αποτελέσματα του πειράματος είναι σε χαμηλότερα επίπεδα από προγενέστερες μελέτες σε κονσερβοποιημένα προϊόντα ολόκληρου καλαμαριού του ίδιου είδους και του είδους *Loligo patagonica*, τα οποία κονσερβοποιούνται μαζί με το εντόσθιο (Falandysz, 1991; Falandysz, 1989).

Η συγκέντρωση του μολύβδου στα δείγματα εντοσθίου που εξετάστηκαν παρέμεινε στα ίδια επίπεδα πριν και μετά την κονσερβοποίηση (πίνακας 17.1). Οι τιμές κυμάνθηκαν μεταξύ 0,020-0,323 mg/kg, με μέσον όρο τα $0,115 \pm 0,084$ mg/kg. Κατά μέσο όρο, η συγκέντρωση του μολύβδου στο εντόσθιο δεν έδειξε καμιά αξιοσημείωτη μεταβολή, κάτι που επιβεβαιώθηκε και στατιστικά ($F=0,014$, $P>0,05$). Η σύγκριση των δύο διαφορετικών επεξεργασιών με σύγκριση κατά ζεύγη έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικές διαφορές ανάμεσα στα ψημένα και στα κονσερβοποιημένα δείγματα του εντόσθιου (πίνακας 17.5), επομένως όπως και στη σάρκα και στο ολόκληρο καλαμάρι, ο βαθμός επίδρασης των δύο επεξεργασιών ήταν παρόμοιος.

Στα κονσερβοποιημένα δείγματα εντοσθίου, η συγκέντρωση του καδμίου παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα και ως μέσος όρος, ο μόλυβδος δεν ξεπέρασε το 10% του νομοθετικού ορίου του 1 mg/kg για νωπά κεφαλόποδα, ενώ κανένα δείγμα δεν ξεπέρασε το όριο ασφαλείας της E.E. Προηγούμενα δημοσιευμένα δεδομένα για τη μεταβολή της συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων σε εντόσθια μετά την κονσερβοποίηση είναι αρκετά περιορισμένα. Δύο προγενέστερες μελέτες στα καλαμάρια *Loligo opalescens* και *Loligo patagonica* έδειξαν ότι η συγκέντρωση του μολύβδου μπορεί να μειωθεί μετά την κονσερβοποίηση, εμφανίζοντας μείωση στο τελικό προϊόν της τάξεως του 15-20% (Falandysz, 1991; Falandysz, 1989).

Σχετικά με τη συμπεριφορά του καδμίου στη σηπία του καλαμαριού, η περιεκτικότητα σε μόλυβδο δεν επηρεάστηκε από τη θερμική επεξεργασία, καθώς παρουσίασε τιμές παρόμοιες με το νωπό προϊόν (πίνακας 17.1). Οι τιμές καδμίου μετά την κονσερβοποίηση κυμάνθηκαν μεταξύ 0,120-0,379 mg/kg, με μέσο όρο τα $0,22 \pm 0,06$ mg/kg. Η στατιστική ανάλυση μεταξύ νωπού και κονσερβοποιημένου καλαμαριού επιβεβαίωσε την έλλειψη στατιστικά σημαντικών διαφορών ανάμεσα στα δύο είδη δειγμάτων ($F=8,45$, $P>0,05$).

Δεδομένου ότι δεν εμφανίστηκαν σημαντικές αλλαγές στη συγκέντρωση του μολύβδου σε κανέναν εξεταζόμενο ιστό πριν και μετά τις δύο μεθόδους επεξεργασίας, ενώ λόγω της απώλειας υγρασίας αναμενόταν να καταγραφεί αύξηση μετά τη θερμική επεξεργασία και κονσερβοποίηση, εξετάστηκε επιπλέον η πιθανότητα της απελευθέρωσης μολύβδου κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Πράγματι, σημαντική ποσότητα μολύβδου ανιχνεύθηκε στο υγρό πλήρωσης των προϊόντων μετά τη κονσερβοποίηση (πίνακας 17.5). Τα ιόντα του μολύβδου έδειξαν μία σαφή τάση να μεταναστεύουν από τους ιστούς των καλαμαριών στην άλμη, σε αντίθεση με το κάδμιο που παρουσίασε μια πολύ μικρή ποσότητα μετανάστευσης. Πιο συγκεκριμένα, μετά την κονσερβοποίηση το κάδμιο στο υγρό πλήρωσης ήταν λιγότερο από 5% της συνολικής περιεκτικότητας σε κάδμιο στη σάρκα, σε αντίθεση με το μόλυβδο, ο οποίος βρέθηκε στο υγρό πλήρωσης σε ποσοστό μεγαλύτερο από 300%, σε σχέση με τη κονσερβοποιημένη σάρκα.

Σχετικά με άλλες μελέτες που κατέγραψαν απώλεια βαρέων μετάλλων κατά την επεξεργασία, οι Atta et al., (1997) κατέγραψαν σημαντική απώλεια μολύβδου κατά τη θερμική επεξεργασία, ιδιαίτερα όταν αυτή περιελάμβανε εμβάπτιση των προϊόντων σε νερό. Σημαντική απώλεια του μετάλλου αρσενικού αναφέρθηκε προηγουμένως σε αλιευτικά προϊόντα μετά το οικιακό μαγείρεμα (Devesa et al., 2001), καθώς και σε κάδμιο από μύδια συσκευασμένα σε βάζα με άλμη (Rasmussen and Morrissey, 2007). Η επίδραση της επεξεργασίας στην περιεκτικότητα σε μέταλλα είναι ισχυρά εξαρτώμενη τόσο από τον τύπο βαρέων μετάλλων, καθώς και από τις συνθήκες επεξεργασίας που εφαρμόζονται. Είναι, επομένως, προφανές ότι οι συνθήκες επεξεργασίας μπορούν να προκαλέσουν μια διαφορετική συμπεριφορά των βαρέων μετάλλων κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, πιθανώς λόγω του διαφορετικού συστήματος βιοσυσσώρευσης

και συγκράτησης των μετάλλων στο κάθε οργανισμό του θαλασσινού. Έτσι, ο ίδιος τύπος επεξεργασίας (π.χ. ψήσιμο, κονσερβοποίηση) μπορεί να προκαλέσει αύξηση ή απώλεια στη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων, ανάλογα με τον τύπο του μετάλλου και του μηχανισμού συγκράτησης του κάθε μετάλλου στους ιστούς των πρώτων υλών. Άρα δε μπορεί να θεσπιστεί ένας ενιαίος κανόνας για την επίδραση ενός τύπου επεξεργασίας σε όλα τα βαρέα μέταλλα, αλλά χρειάζονται εξειδικευμένες μελέτες που θα απευθύνονται σε κάθε μέταλλο, υπόστρωμα και τρόπο επεξεργασίας χωριστά.

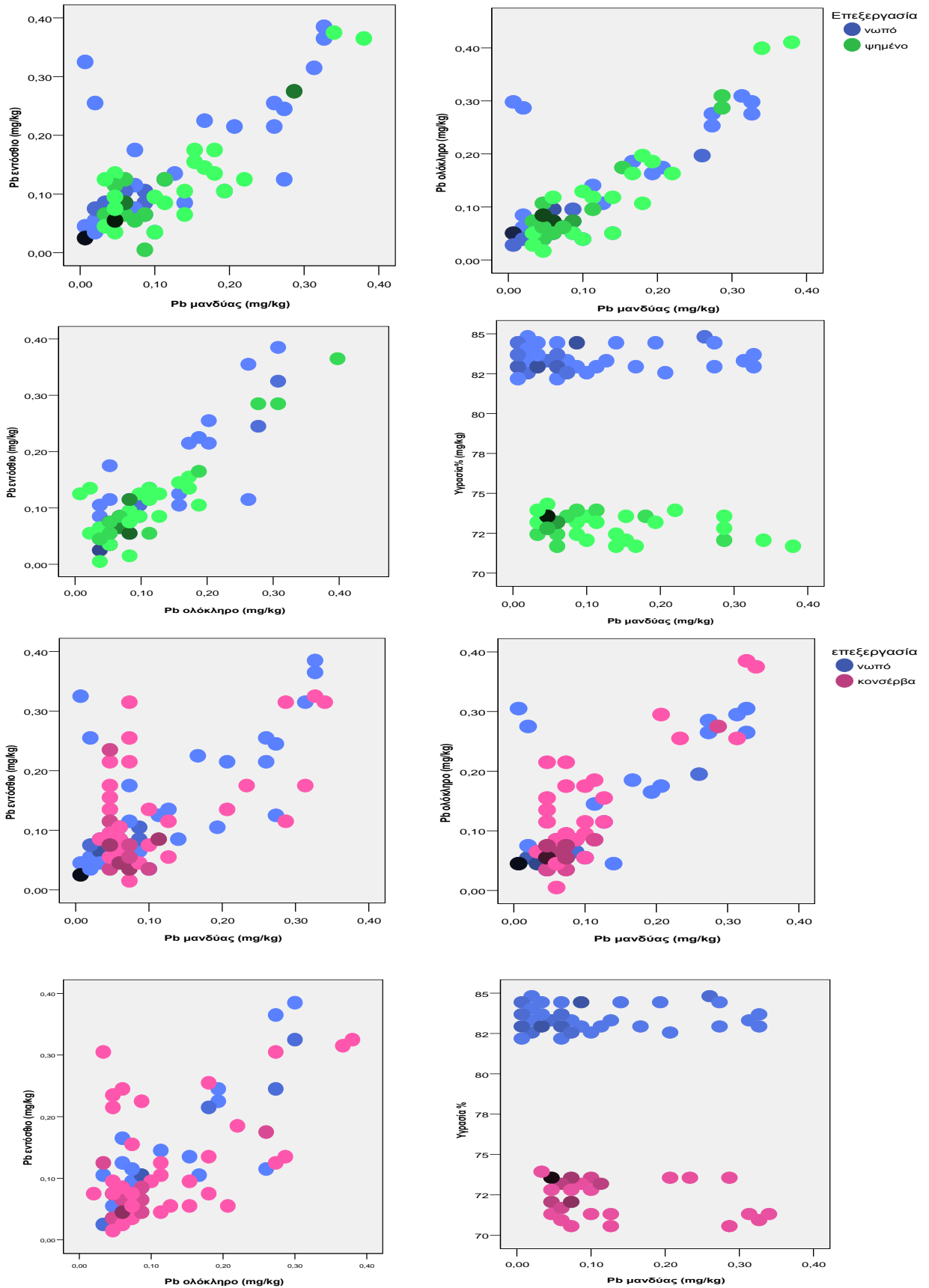
Η διερεύνηση της πιθανής συσχέτισης μεταξύ της αύξησης του μολύβδου και της μείωσης της περιεχόμενης υγρασίας οδήγησε στη στατιστική ανάλυση συσχέτισης μεταξύ του μολύβδου στους διαφορετικούς ιστούς (μανδύας, ολόκληρο, εντόσθιο) και της υγρασίας (πίνακας 17.6). Ο μόλυβδος παρουσίασε σημαντική θετική συσχέτιση ανάμεσα στους ιστούς, κάτι που σημαίνει ότι η μεταβολή του μολύβδου στη σάρκα και το ολόκληρο καλαμάρι επηρεάζεται σημαντικά από τη μεταβολή του μολύβδου στο εντόσθιο με θετική συσχέτιση, δηλαδή όταν αυξάνεται ο μόλυβδος στο μανδύα αυξάνεται και στο εντόσθιο και σε ολόκληρο το καλαμάρι (-0,480**, -0,669*), ενώ και η απώλεια υγρασίας επηρεάζει τη μεταβολή στη συγκέντρωση του καδμίου μόνο στη σάρκα κατά την επεξεργασία (0,183*). Οι σημαντικές συσχετίσεις δίνονται στο γράφημα 17.4.

Πίνακας 17.6. Έλεγχος συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών Pb μανδύα, Pb ολόκληρο, Pb εντόσθιο και υγρασίας στο καλαμάρι (με χρήση του συντελεστή Spearman rho).

		Pbμανδύας	Pb ολόκληρο	Pb εντόσθιο	Υγρασία
Pb μανδύας	Correlation Coefficient	1,000	0,669(**)	0,480(**)	-0,183(*)
	Sig. (2-tailed)	.	0,000	0,000	0,025
Pb ολόκληρο	Correlation Coefficient	0,669(**)	1,000	0,601(**)	-0,074
	Sig. (2-tailed)	0,000	.	0,000	0,369
Pb εντόσθιο	Correlation Coefficient	0,480(**)	0,601(**)	1,000	-0,066
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,000	.	0,419
Υγρασία	Correlation Coefficient	-0,183(*)	-0,074	-0,066	1,000
	Sig. (2-tailed)	0,025	0,369	0,419	.

*Η συσχέτιση είναι σημαντική στο επίπεδο 0,05

** Η συσχέτιση είναι σημαντική στο επίπεδο 0,01



Σχήμα 17.4. Διαγράμματα scatter plot συγκέντρωσης μολύβδου στη σάρκα-ολόκληρο-εντόσθιο και υγρασίας στο καλαμάρι κατά την επεξεργασία του ψησίματος και της κονσερβοποίησης.

Κεφάλαιο 18. Ο ρόλος των μεταλλοθειονινών στην επεξεργασία του καλαμαριού

18.1. Οι μεταλλοθειονίνες στο νωπό καλαμάρι και η επίδραση της επεξεργασίας

Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, το ποσοστό μείωσης της υγρασίας κατά την επεξεργασία του ψησίματος και της κονσερβοποίησης στα καλαμαρία δεν ήταν ισόποσο με την αντίστοιχη αύξηση του καδμίου. Επομένως, η συσχέτιση μεταξύ των δύο παραγόντων δεν ήταν ακριβώς ανάλογη, καθώς η αύξηση του καδμίου στο μανδύα και στο ολόκληρο καλαμάρι ήταν πολλαπλάσια μεγαλύτερη από το αντίστοιχο ποσοστό απώλειας της υγρασίας. Ανάλογη παρατήρηση είχε γίνει και από τους Rasmussen και Morrissey (2007), οι οποίοι κατά τη μελέτη της κονσερβοποίησης τόνου, βρήκαν αύξηση του υδραργύρου κατά 23% και μείωση της υγρασίας κατά 5,6%. Ιδιαίτερα το ποσοστό αύξησης στη σάρκα μετά την επεξεργασία στη σάρκα (>200%) δεν ήταν δυνατό να αιτιολογηθεί μόνο με τη συρρίκνωση των ιστών, λόγω απώλειας της υγρασίας. Αναζητήθηκε επομένως μια πιθανή εξήγηση της μεγάλης αύξησης του καδμίου κατά το ψήσιμο και την κονσερβοποίηση, καθώς αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό εύρημα με σημαντικές τοξικολογικές επιπτώσεις στη διαιτητική πρόσληψη των βαρέων μετάλλων και στην ασφάλεια των καταναλωτών.

Τόσο το ψήσιμο, όσο και η διαδικασία κονσερβοποίησης φαίνεται να αναδιανέμει το κάδμιο Cd σε διάφορους ιστούς, έτσι ώστε να προκύπτει αύξηση της συγκέντρωσης του καδμίου στη σάρκα και μείωση της συγκέντρωσης του καδμίου στα εντόσθια του καλαμαριού. Προηγούμενες σχετικές μελέτες έδειξαν ότι η μεταβολή των μεταλλοθειονινών (MT) ως πρωτεϊνών φορέων των βαρέων μετάλλων θα μπορούσε ενδεχομένως να παίζει σημαντικό ρόλο στην αναδιανομή τους κατά την επεξεργασία ή αποθήκευση των θαλασσινών (Pourang και Dennis 2005, Pourang et al., 2005). Για αυτό τον λόγο πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των μεταλλοθειονινών στα δείγματα του καλαμαριού και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 18.1.

Πίνακας 18.1. Συγκέντρωση μεταλλοθειονινών στο μανδύα, ολόκληρο, εντόσθιο και υγρό πλήρωσης του καλαμαριού Καλιφόρνιας, πριν και μετά το ψήσιμο και την κονσερβοποίηση (mg MT/g ιστού).

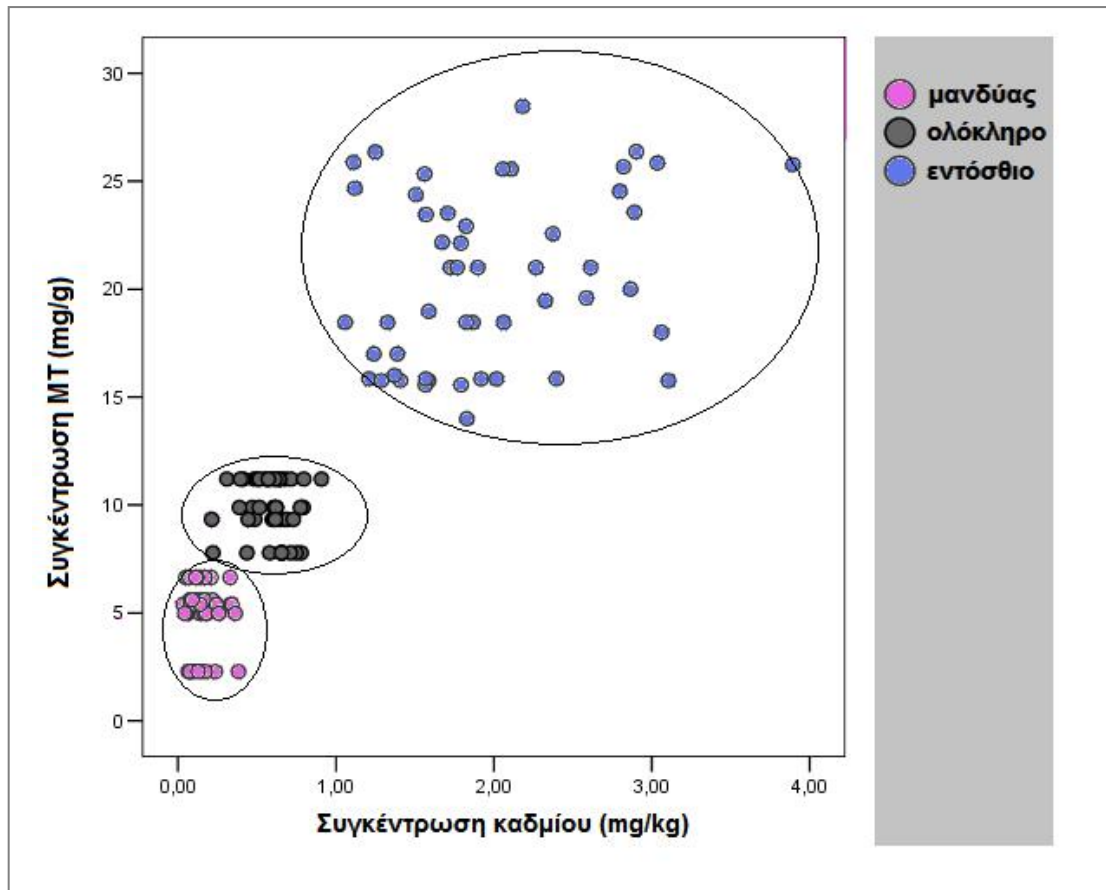
Επεξεργασία	Μανδύας	Ολόκληρο	Εντόσθιο	Υγρό πλήρωσης
Νωπό	4,98 ±1,52	9,87 ±1,32	20,51 ±3,95	ND
Ψημένο	12,60 ±1.12*	14,37 ±2,53	11,41 ±1,14	-
Κονσέρβα	11,70 ±3,12	13,69 ±3,14	10,72 ±2,35	4,20 ±0,62

* Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές με έντονα γράμματα (P<0,05).

Στα δείγματα του νωπού καλαμαριού, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το εντόσθιο περιείχε την πλειονότητα των μεταλλοθειονινών, σε σύγκριση με το ολόκληρο καλαμάρι και τον μανδύα (4,98, 9,87 και 20,5 mg MT/g ιστού αντίστοιχα).

Το προφίλ κατανομής στους τρεις εξεταζόμενους ιστούς ήταν με τη σειρά: σπλάχνα> ολόκληρο> μανδύας, το οποίο βρίσκεται σε γενική συμφωνία με την κατανομή του καδμίου στο νωπό καλαμάρι (σχήμα 18.1). Ο συντελεστής συσχέτισης Pearson επιβεβαίωσε τη θετική σημαντική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του καδμίου και των μεταλλοθειονινών στο νωπό καλαμάρι ($r=0,871$, σχηματικά στο σχήμα 18.1). Ως εκ τούτου, είναι προφανές ότι η συσσώρευση του καδμίου στους διάφορους ιστούς του καλαμαριού εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη συγκέντρωση των μεταλλοθειονινών. Η σχέση μεταξύ MT και βαρέων μετάλλων, συμπεριλαμβανομένου του καδμίου, έχει μελετηθεί για αρκετά είδη και έχουν προαναφερθεί σημαντικές συσχετίσεις (Hamza-Chaffai et al., 1995).

Μια ακόμα παρατήρηση είναι ότι ο ποσοτικός προσδιορισμός των μεταλλοθειονινών στο υγρό πλήρωσης του καλαμαριού έδειξε ότι μια ποσότητα των μεταλλοθειονινών διαρρέει στο υγρό πλήρωσης μετά την κονσερβοποίηση. Αυτό εξηγεί την ανίχνευση μιας μικρής ποσότητας καδμίου στο υγρό πλήρωσης μετά την κονσερβοποίηση (πίνακας 18.1).



Σχήμα 18.1. Η σχέση μεταξύ καδμίου-μεταλλοθειονινών στο νωπό καλαμάρι Καλιφόρνιας (η συγκέντρωση MT είναι σε mg/g ιστού και η συγκέντρωση καδμίου σε mg/kg).

Τα αποτελέσματα που αφορούν την επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση των MT δίνονται στον πίνακα 18.1, και παρουσιάζονται σχηματικά για το μανδύα, ολόκληρο και εντόσθιο στο σχήμα 18.2. Μετά την εφαρμογή των δύο μεθόδων επεξεργασίας, η συγκέντρωση των MT αυξήθηκε κατά 110% στο μανδύα και 43% στο ολόκληρο καλαμάρι. Αντιθέτως, τα επίπεδα των MT στα εντόσθια έδειξαν διαφορετική συμπεριφορά ως προς τους υπόλοιπους ιστούς. Η συγκέντρωση των MT μειώθηκε κατά 80% μετά το ψήσιμο και κατά 91% μετά τη διαδικασία κονσερβοποίησης.

Η στατιστική αξιολόγηση για την επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση μεταλλοθειονινών στο μανδύα, ολόκληρο και εντόσθιο του καλαμαριού έδειξε σημαντικές διαφορές μετά την εφαρμογή της κάθε επεξεργασίας ($F_{\text{μανδύας}}=210,48$, $F_{\text{ολόκληρο}}=48,22$, $F_{\text{εντόσθιο}}=210,04$, πίνακας 18.2).

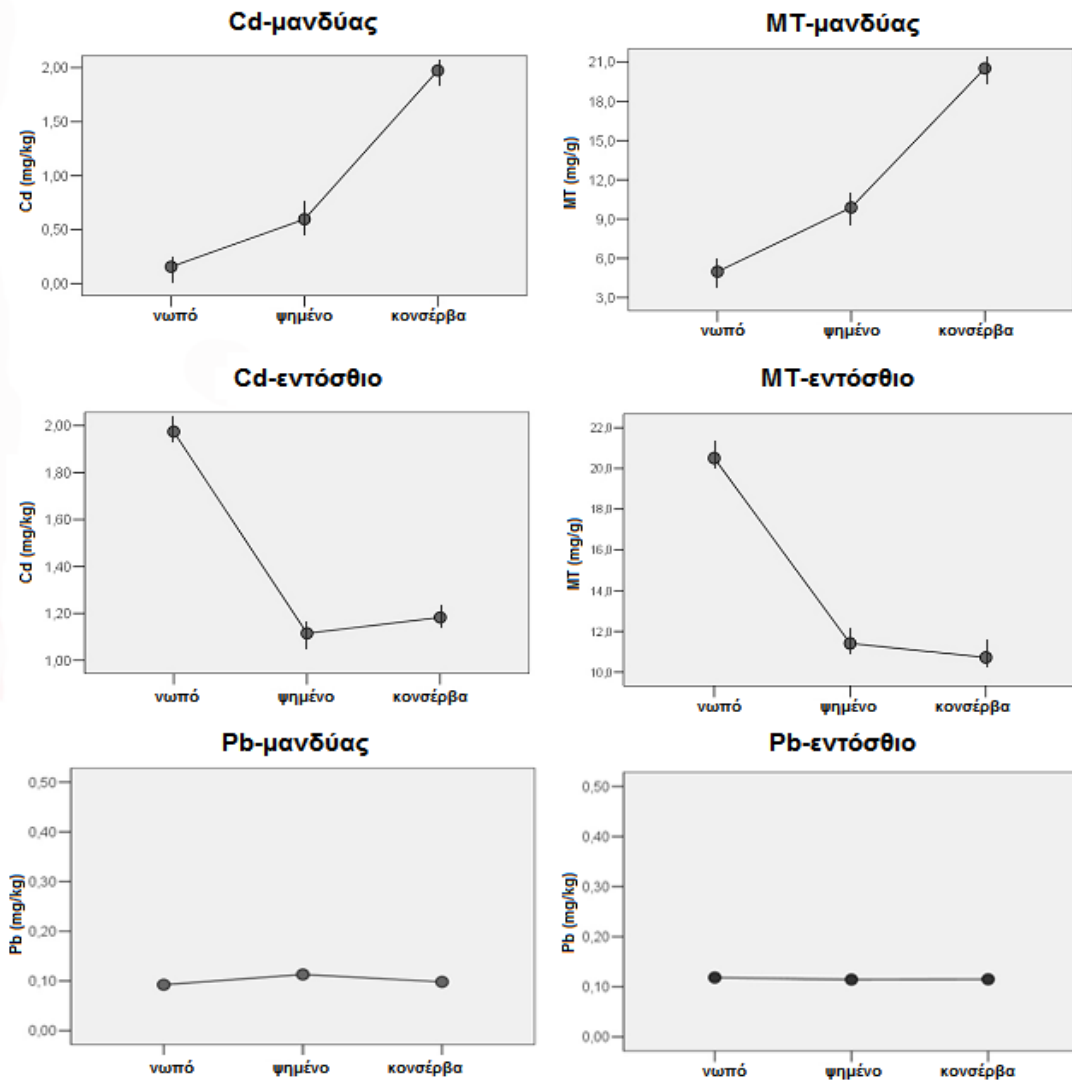
Πίνακας 18.2. Στατιστική ανάλυση πολυπαραγοντικής διακύμανσης για την επίδραση της επεξεργασίας στη συγκέντρωση των μεταλλοθειονινών στους τρεις ιστούς (μανδύας, ολόκληρο, εντόσθιο) του καλαμαριού κατά τη θερμική επεξεργασία.

Πηγή διακύμανσης	Εξαρτημένη μεταβλητή	Άθροισμα Τετραγώνων	Βαθμοί Ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	Τιμή F	Σημαντικότητα P
Επεξεργασία	MT _{μανδύας}	1.738,340	2	869,170	210,48	0,000
	MT _{ολόκληρο}	586,824	2	293,412	48,82	0,000
	MT _{εντόσθιο}	2.983,965	2	1.491,982	201,04	0,000
Error	MT _{μανδύας}	607,028	147	4,129		
	MT _{ολόκληρο}	883,452	147	6,010		
	MT _{εντόσθιο}	1.090,936	147	7,421		
Total	MT _{μανδύας}	16.649,628	150			
	MT _{ολόκληρο}	25.466,062	150			
	MT _{εντόσθιο}	34.373,500	150			
Corrected	MT _{μανδύας}	2.345,368	149			
Total	MT _{ολόκληρο}	1.470,276	149			
	MT _{εντόσθιο}	4.074,901	149			

Προχωρώντας στη στατιστική ανάλυση και μετά από εφαρμογή post hoc tests για τη σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ομάδες ανά ζεύγη (πίνακας 18.3), βρέθηκε ότι η επίδραση του ψησίματος και της κονσερβοποίησης ήταν στατιστικά σημαντική στη συγκέντρωση MT σε όλους τους εξεταζόμενους ιστούς, αλλά μεταξύ των δύο επεξεργασιών δεν εντοπίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, οπότε ο βαθμός επίδρασης των δύο επεξεργασιών ήταν παρόμοιος. Ανάλογη παρατήρηση είχε γίνει και στα αποτελέσματα του καδμίου, σχετικά με την επίδραση της επεξεργασίας. Οπότε συμπεραίνεται ότι υπάρχει μια ομοιότητα στη συμπεριφορά των μεταλλοθειονινών και του καδμίου σε σχέση με τις δύο εφαρμοζόμενες μεθόδους επεξεργασίας.

Πίνακας 18.3. Σύγκριση στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών τύπων επεξεργασίας (ψησιμο, κονσερβοποίηση) στη συγκέντρωση των μεταλλοθειονινών στο μανδύα, ολόκληρο, εντόσθιο του καλαμαριού. Με έντονη γραμματοσειρά οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Τύπος δείγματος	(I) επεξεργασία	(J) επεξεργασία	Διαφορά μέσων όρων	Τυπικό σφάλμα	Σημαντικότητα
MT μανδύας	νωπό	ψημένο	-7,6220(*)	0,40642	0,000
		κονσέρβα	-6,7400(*)	0,40642	0,000
	ψημένο	νωπό	7,6220(*)	0,40642	0,000
		κονσέρβα	0,8820	0,40642	0,080
	κονσέρβα	νωπό	6,7400(*)	0,40642	0,000
		ψημένο	-0,8820	0,40642	0,080
MT ολόκληρο	νωπό	ψημένο	-4,4920(*)	0,49030	0,000
		κονσέρβα	-3,8180(*)	0,49030	0,000
	ψημένο	νωπό	4,4920(*)	0,49030	0,000
		κονσέρβα	0,6740	0,49030	0,357
	κονσέρβα	νωπό	3,8180(*)	0,49030	0,000
		ψημένο	-0,6740	0,49030	0,357
MT εντόσθιο	νωπό	ψημένο	9,0952(*)	0,54484	0,000
		κονσέρβα	9,7894(*)	0,54484	0,000
	ψημένο	νωπό	-9,0952(*)	0,54484	0,000
		κονσέρβα	0,6942	0,54484	0,412
	κονσέρβα	νωπό	-9,7894(*)	0,54484	0,000
		ψημένο	-0,6942	0,54484	0,412



Σχήμα 18.2. Η μεταβολή της συγκέντρωσης καδμίου, μολύβδου και μεταλλοθειονινών κατά τις διαφορετικές επεξεργασίες του καλαμαριού.

Από τα δεδομένα του σχήματος 18.2 φαίνεται ότι υπάρχουν φανερές ομοιότητες στη συμπεριφορά του καδμίου και των μεταλλοθειονινών κατά την επεξεργασία των δειγμάτων, ενώ αντίθετα ο μολύβδος δεν παρουσιάζει κοινή συμπεριφορά με τις δύο άλλες μεταβλητές, ούτε στο μανδύα ούτε στο εντόσθιο. Οι παρατηρήσεις αυτές, σε συνδυασμό με την ανάγκη για περαιτέρω διερεύνηση του μηχανισμού μεταβολής της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων κατά την επεξεργασία, οδήγησαν στη μελέτη των πιθανών συσχετίσεων των μεταβλητών αυτών με τη χρήση στατιστικών εργαλείων συσχέτισης.

18.2. Η σχέση μεταξύ των μεταλλοθειονινών και βαρέων μετάλλων (Cd, Pb)

Προκειμένου να εξεταστούν οι πιθανές σχέσεις μεταξύ των MT και βαρέων μετάλλων κατά την επεξεργασία πραγματοποιήθηκε διμεταβλητή ανάλυση συσχέτισης (bivariate correlation analysis) και τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 18.4 για το ψήσιμο και στον πίνακα 18.5 για την κονσερβοποίηση. Η σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του καδμίου και του MT βρέθηκε στατιστικά σημαντική στον μανδύα, ολόκληρο καλαμάρι και το εντόσθιο και στις δύο μορφές επεξεργασίας ($P < 0,01$). Ως εκ τούτου, είναι προφανές ότι η συμπεριφορά του καδμίου συνδέεται στενά με τη μεταβολή της συγκέντρωσης των MT στο μανδύα, ολόκληρο και εντόσθιο του καλαμαριού κατά τη μεταβολή τους στις δύο μεθόδους επεξεργασίας.

Το κάδμιο συνδέεται με MT μέσω των αμινοξέων της κυστεΐνης, λόγω της υψηλής συνάφειας μεταξύ των σουλφιδρυλικών ομάδων της κυστεΐνης και του μεταλλικού ιόντος. Ο δεσμός κυστεΐνης και ιόντων καδμίου θεωρείται ισχυρός και "ανθεκτικός" στην εφαρμογή θέρμανσης και την επιβολή πίεσης, έτσι ώστε η συμπεριφορά του καδμίου να μπορεί να αποδοθεί στη μεταβολή του σύμπλοκου Cd -MT κατά την επεξεργασία (Roesijadi, 1992; Pourang et al., 2005). Δεδομένου ότι το μεγαλύτερο μέρος αυτού του συμπλόκου βρίσκεται στα εντόσθια, η εφαρμογή της θερμότητας ή/και υψηλής πίεσης κατά το ψήσιμο ή τη βιομηχανική κονσερβοποίηση μπορεί να οδηγήσει στην ανακατανομή του από το εντόσθιο στα άλλα μέρη του καλαμαριού, όπως τον μανδύα.

Όσον αφορά στην υψηλή συγγένεια των μεταλλοθειονινών για ορισμένα άλλα ιχνοστοιχεία, όπως το αρσενικό, η συμπεριφορά αρκετών μετάλλων μπορεί να αποδοθεί στη δομή και ιδιότητες σύνδεσής τους με τις MT, ενώ η ανακατανομή αυτών των συμπλόκων μπορεί να εξηγήσει τις μεταβολές τους κατά την επεξεργασία. Στην περίπτωση του μολύβδου δε βρέθηκε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στις μεταλλοθειονίνες και τη μεταβολή του κατά το ψήσιμο ή την κονσερβοποίηση (πίνακες 18.4 και 18.5). Ως εκ τούτου, οι ίδιες τεχνικές επεξεργασίας μπορούν να επηρεάσουν τα βαρέα μέταλλα με διαφορετικό τρόπο, πιθανώς, λόγω του διαφορετικού μηχανισμού βιοσυσσώρευσης στα διάφορα θαλασσινά και εξαιτίας των ιδιαιτεροτήτων στη χημική σύστασή τους.

Πίνακας 18.4. Ανάλυση συσχέτισης μεταξύ του καδμίου, μολύβδου και μεταλλοθειονινών στο μανδύα, ολόκληρο και εντόσθιο του καλαμαριού *Loligo opalescens* στα ψημένα προϊόντα.

	Cd μανδύας	Cd ολόκληρο	Cd εντόσθιο	Pb μανδύας	Pb ολόκληρο	Pb εντόσθιο	MT μανδύας	MT ολόκληρο	MT εντόσθιο
Cd μανδύας (συντ.spearman)	1,000	0,554	-0,523	0,060	0,117	0,001	0,732	0,612	-0,744
(σημαντικότητα P)	.	0,000	0,000	0,550	0,245	0,994	0,000	0,000	0,000
Cd ολόκληρο	0,554	1,000	-0,196	0,184	-0,014	-0,047	0,456	0,309	-0,358
(σημαντικότητα P)	0,000	.	0,051	0,066	0,889	0,641	0,000	0,002	0,000
Cd εντόσθιο	-0,523	-0,196	1,000	-0,060	-0,054	-0,003	-0,603	-0,513	0,608
(σημαντικότητα P)	0,000	0,051	.	0,551	0,591	0,974	0,000	0,000	0,000
Pb μανδύας	0,060	0,184	-0,060	1,000	0,695	0,628	0,008	0,212	-0,089
(σημαντικότητα P)	0,550	0,066	0,551	.	0,000	0,000	0,937	0,034	0,381
Pb ολόκληρο	0,117	-0,014	-0,054	0,695	1,000	0,741	0,161	0,146	-0,101
(σημαντικότητα P)	0,245	0,889	0,591	0,000	.	0,000	0,109	0,148	0,315
Pb εντόσθιο	0,001	-0,047	-0,003	0,628	0,741	1,000	0,045	0,041	-0,009
(σημαντικότητα P)	0,994	0,641	0,974	0,000	0,000	.	0,658	0,686	0,931
MT μανδύας	0,732	0,456	-0,603	0,047	0,161	0,045	1,000	0,778	-0,725
(σημαντικότητα P)	0,000	0,000	0,000	0,513	0,109	0,658	.	0,000	0,000
MT ολόκληρο	0,612	0,309	-0,513	0,012	0,146	0,041	0,778	1,000	-0,469
(σημαντικότητα P)	0,000	0,002	0,000	0,934	0,148	0,686	0,000	.	0,000
MT εντόσθιο	-0,744	-0,358	0,608	-0,089	-0,101	-0,009	-0,725	-0,469	1,000
(σημαντικότητα P)	0,000	0,000	0,000	0,381	0,315	0,931	0,000	0,000	.

Κόκκινο: η συσχέτιση είναι στατιστικά σημαντική (επίπεδο P 0,01)

Πίνακας 18.5. Ανάλυση συσχέτισης μεταξύ του καδμίου, μολύβδου και μεταλλοθειονινών στο μανδύα, ολόκληρο και εντόσθιο του καλαμαριού *Loligo opalescens* στα κονσερβοποιημένα προϊόντα.

	Cd μανδύας	Cd ολόκληρο	Cd εντόσθιο	Pb μανδύας	Pb ολόκληρο	Pb εντόσθιο	MT μανδύας	MT ολόκληρο	MT εντόσθιο
Cd μανδύας (συντ.spearman)	1,000	0,581	-0,458	0,032	0,120	0,019	0,745	0,528	-0,719
(σημαντικότητα P)	.	0,000	0,000	0,753	0,233	0,854	0,000	0,000	0,000
Cd ολόκληρο	0,581	1,000	-0,186	0,146	0,021	0,085	0,471	0,310	-0,452
(σημαντικότητα P)	0,000	.	0,064	0,147	0,839	0,400	0,000	0,002	0,000
Cd εντόσθιο	-0,458	-0,186	10,000	0,017	0,022	0,025	-0,509	-0,362	0,529
(σημαντικότητα P)	0,000	0,064	.	0,866	0,825	0,802	0,000	0,000	0,000
Pb μανδύας	0,032	0,146	0,017	1,000	0,659	0,468	0,161	0,057	-0,132
(σημαντικότητα P)	0,753	0,147	0,866	.	0,000	0,000	0,110	0,573	0,191
Pb ολόκληρο	0,120	0,021	0,022	0,659	1,000	0,583	0,106	0,047	-0,178
(σημαντικότητα P)	0,233	0,839	0,825	0,000	.	0,000	0,294	0,640	0,077
Pb εντόσθιο	0,019	0,085	0,025	0,468	0,583	1,000	0,008	0,003	-0,018
(σημαντικότητα P)	0,854	0,400	0,802	0,000	0,000	.	0,937	0,975	0,860
MT μανδύας	0,745	0,471	-0,509	0,161	0,106	0,008	1,000	0,784	-0,654
(σημαντικότητα P)	0,000	0,000	0,000	0,110	0,294	0,937	.	0,000	0,000
MT ολόκληρο	0,528	0,310	-0,362	0,057	0,047	0,003	0,784	1,000	-0,373
(σημαντικότητα P)	0,000	0,002	0,000	0,573	0,640	0,975	0,000	.	0,000
MT εντόσθιο	-0,719	-0,452	0,529	-0,132	-0,178	-0,018	-0,654	-0,373	1,000
(σημαντικότητα P)	0,000	0,000	0,000	0,191	0,077	0,860	0,000	0,000	.

Κόκκινο: η συσχέτιση είναι στατιστικά σημαντική (επίπεδο P 0,01)

Η έρευνα για το ρόλο των μεταλλοθειονινών στην παρούσα μελέτη έδειξε ότι οι πρωτεΐνες αυτές συνδέονται άμεσα με τη συγκέντρωση και τη συμπεριφορά του καδμίου και στις δύο εξεταζόμενες μεθόδους μεταποίησης, υποδεικνύοντας ότι η επίδραση της επεξεργασίας συνδέεται στενά με ένα φαινόμενο ανακατανομής MT-Cd μεταξύ των ιστών. Η προηγούμενη βιβλιογραφία σχετικά με τη συμπεριφορά των μεταλλοθειονινών κατά την επεξεργασία και τη συσχέτισή της με τα βαρέα μέταλλα είναι πολύ περιορισμένη, ιδιαίτερα σε θερμικές επεξεργασίες μεταποίησης. Μια προγενέστερη μελέτη σε δίθυρα μαλάκια έδειξε ότι η παραμονή των πρώτων υλών σε θερμοκρασίες κατάψυξης προκαλεί αύξηση του καδμίου στα επεξεργασμένα προϊόντα, λόγω της ανακατανομής του καδμίου από τον πεπτικό αδένα στη μυϊκή μάζα (Francesconi et al., 1993). Σε δύο μεταγενέστερες μελέτες, οι Pourang et al., (2005) και Pourang και Dennis, (2005) έχουν καταλήξει ότι υπάρχει μια σημαντική σχέση μεταξύ καδμίου-μεταλλοθειονινών, η οποία αιτιολογεί την ανακατανομή του καδμίου στους διαφόρους ιστούς πριν και μετά την επεξεργασία, όπως καταγράφηκε κατά την αποθήκευση διαφόρων ειδών γαρίδων σε βαθειά κατάψυξη και σε θερμοκρασία ψυγείου.

Λόγω της υψηλής συγγένειας των μεταλλοθειονινών για ορισμένα ιχνοστοιχεία και εξαιτίας της κοινής τους συμμεταβολής, πριν, αλλά και μετά την επεξεργασία με τα μέταλλα αυτά, η συμπεριφορά ορισμένων βαρέων μετάλλων κατά τις μεθόδους μεταποίησης μπορεί να αποδοθεί στη δομή και στις ιδιότητες σύνδεσής τους με τις μεταλλοθειονίνες. Επιπλέον, η ανακατανομή αυτών των πρωτεϊνών-μεταλλικών συμπλόκων μπορεί να αιτιολογήσει τα αποτελέσματα της κάθε επεξεργασίας στη μεταβολή της συγκέντρωσής τους. Η σχέση βαρέων μετάλλων-μεταλλοθειονινών είναι αυστηρά εξειδικευμένη και αποδίδεται καθαρά στον μηχανισμό αποθήκευσης και συσσώρευσης του κάθε μετάλλου χωριστά από τον ίδιο τον οργανισμό των κεφαλόποδων, καθώς και από το προφίλ κατανομής των μετάλλων αυτών στους διαφορετικούς ιστούς που υφίσταται την επεξεργασία. Επομένως, στην περίπτωση του καδμίου στο καλαμάρι, η μεγάλη αύξηση στο μανδύα, αλλά και στον ολόκληρο ιστό αποδίδεται στην απελευθέρωση του συμπλόκου καδμίου-μεταλλοθειονινών κατά το στάδιο της θερμικής επεξεργασίας και άρα η αφαίρεση του ιστού των εντοσθίων, εφόσον αυτό είναι δυνατόν, θα οδηγούσε σε μείωση του περιεχόμενου καδμίου στο μανδύα και ολόκληρο καλαμάρι του τελικού προϊόντος.

Κεφάλαιο 19. Εκτίμηση της εβδομαδιαίας πρόσληψης του Cd και Pb

Τα πειραματικά αποτελέσματα για τα νωπά, ψημένα και κονσερβοποιημένα προϊόντα χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της εβδομαδιαίας διαιτητικής πρόσληψης καδμίου και μολύβδου στον ελληνικό και ευρωπαϊκό πληθυσμό, δίνοντας μια εικόνα για την εκτίμηση της επικινδυνότητας (risk assesment) από την κατανάλωση αυτών των προϊόντων. Ως όριο ανεκτής εβδομαδιαίας πρόσληψης χρησιμοποιήθηκαν για το κάδμιο τα 2,5 μg/ κιλό σωματικού βάρους (ESFA, 2011) και για τον μόλυβδο τα 25 μg/ κιλό σωματικού βάρους (WHO, 2004). Τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 19.1 για το κάδμιο και στον πίνακα 19.2 για τον μόλυβδο.

Πίνακας 19.1. Διαιτητική εβδομαδιαία πρόσληψη καδμίου (μg/εβδομάδα) για τον ελληνικό και ευρωπαϊκό πληθυσμό (μέσο σωματικό βάρος: 70 kg).

Είδος τροφίμου	Μέση εβδομαδιαία πρόσληψη Ελλάδα (μg/kg)*	Μέση εβδομαδιαία πρόσληψη Ευρώπη (μg/kg)♣	% επί της συνιστώμενης εβδομαδιαίας ποσότητας Ελλάδα
Σαρδέλα			
<i>Νωπή</i>	2,0	2,0	1,2
<i>Ψημένη</i>	3,3	3,2	1,9
<i>Κονσερβοποιημένη</i>	3,8	3,7	2,2
Γάυρος			
<i>Νωπός</i>	3,8	3,7	2,2
<i>Ψημένος</i>	5,5	5,4	3,2
<i>Κονσερβοποιημένος</i>	6,8	6,6	3,9
Καλαμάρι Καλιφόρνιας (μανδύας)			
<i>Νωπό</i>	8,5	5,4	4,9
<i>Ψημένο</i>	28,9	18,1	16,5
<i>Κονσερβοποιημένο</i>	26,4	16,6	15,1
Καλαμάρι Καλιφόρνιας (ολόκληρο)			
<i>Νωπό</i>	38,0	23,9	21,7
<i>Ψημένο</i>	45,0	28,3	25,7
<i>Κονσερβοποιημένο</i>	43,5	27,3	24,8

*μέση κατανάλωση ψαριών για την Ελλάδα: 252 g/εβδομάδα, θαλασσινών: 36,4 g/εβδομάδα

♣ μέση κατανάλωση ψαριών για την Ευρώπη: 233 g/εβδομάδα, θαλασσινών: 33,6 g/εβδομάδα

Πίνακας 19.2. Διαιτητική εβδομαδιαία πρόσληψη μολύβδου (μg/εβδομάδα) για τον ελληνικό και ευρωπαϊκό πληθυσμό (μέσο σωματικό βάρος: 70 kg).

Είδος τροφίμου	Μέση εβδομαδιαία πρόσληψη Ελλάδα (μg/kg)*	Μέση εβδομαδιαία πρόσληψη Ευρώπη (μg/kg)♣	% επί της συνιστώμενης εβδομαδιαίας ποσότητας Ελλάδα
Σαρδέλα			
<i>Νωπή</i>	41,8	37,2	2,39
<i>Ψημένη</i>	50,9	45,2	1,66
<i>Κονσερβοποιημένη</i>	58,0	51,5	1,89
Γάδος			
<i>Νωπός</i>	26,5	23,5	0,86
<i>Ψημένος</i>	35,0	31,1	1,14
<i>Κονσερβοποιημένος</i>	37,8	33,6	1,23
Καλαμάρι Καλιφόρνιας (μανδύας)			
<i>Νωπό</i>	3,3	3,1	0,11
<i>Ψημένο</i>	4,1	3,8	0,13
<i>Κονσερβοποιημένο</i>	3,6	3,3	0,12
Καλαμάρι Καλιφόρνιας (ολόκληρο)			
<i>Νωπό</i>	3,8	3,5	0,12
<i>Ψημένο</i>	4,2	3,9	0,14
<i>Κονσερβοποιημένο</i>	4,2	3,9	0,14

*μέση κατανάλωση ψαριών για την Ελλάδα: 252 g/εβδομάδα, θαλασσινών: 36,4 g/εβδομάδα

♣ μέση κατανάλωση ψαριών για την Ευρώπη: 233 g/εβδομάδα, θαλασσινών: 33,6 g/εβδομάδα

(Πηγή δεδομένων κατανάλωσης τροφίμων: Scoop 3.2.1.1. 2004).

Σχετικά με τις τιμές του καδμίου και του μολύβδου στα νωπά προϊόντα, τόσο στα ψάρια, όσο και στα κεφαλόποδα, η ποσότητα βαρέων μετάλλων που προσλαμβάνεται καλύπτει μέχρι το 5% της ανεκτής εβδομαδιαίας πρόσληψης σε κάδμιο και μόλυβδο, άρα δεν συντρέχει κίνδυνος ανησυχίας για την κατανάλωση των προϊόντων αυτών. Η μόνη κατηγορία νωπού προϊόντος που κάλυψε πάνω από 20% της ανεκτής ενδομαδιαίας πρόσληψης ήταν το ολόκληρο καλαμάρι, με τιμές 21,7%, λόγω της παρουσίας των εντοσθίων στο περιεχόμενό του. Συνιστάται λοιπόν προσοχή στην κατανάλωση κεφαλόποδων με εντόσθια, καθώς συνεισφέρουν σημαντικά στη διαιτητική πρόσληψη καδμίου.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα φαίνεται ότι οι μέθοδοι μεταποίησης μεταβάλλουν το ποσοστό της εβδομαδιαίας πρόσληψης σε όλα τα προϊόντα που εξετάστηκαν. Στην περίπτωση των ψαριών, η υπολογιζόμενη εβδομαδιαία πρόσληψη του Cd και του Pb παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα, ακόμα και μετά την επεξεργασία, συνεισφέροντας ελάχιστα στο συνολικό όριο ασφαλείας της εβδομαδιαίας διαιτητικής πρόσληψης. Το μέγιστο ποσοστό εβδομαδιαίας πρόσληψης για τα ψάρια προσδιορίστηκε στην περίπτωση των κονσερβών γαύρου, με το κάδμιο να συνεισφέρει περίπου στο 4% του ορίου ασφαλείας.

Σχετικά με το καλαμάρι και τις διάφορες μορφές μεταποίησης, συνιστάται προσοχή στη σημαντική αύξηση της ποσότητας καδμίου στη σάρκα μετά τη μεταποίηση. Σημειώνεται ότι το αρχικό ποσοστό της εβδομαδιαίας πρόσληψης για το νωπό καλαμάρι αυξήθηκε από 8,5 στα 28,9% για το ψημένο καλαμάρι, αυξάνοντας αντίστοιχα 3,5 φορές το αρχικό ποσοστό της μέγιστης ανεκτής διαιτητικής πρόσληψης (από 4,9% στο 16,9%), χωρίς παρόλα αυτά να ξεπερνά το ανώτατο όριο ασφαλείας διαιτητικής πρόσληψης και επομένως να μη δημιουργεί ανησυχία για τη δημόσια υγεία των καταναλωτών.

Σημειώνεται, ωστόσο ότι σχετικά με τις συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων των μεταποιημένων προϊόντων, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι μερίδες κατανάλωσης των μεταποιημένων και όχι τα δεδομένα κατανάλωσης των νωπών προϊόντων. Στις περισσότερες μελέτες λαμβάνονται υπόψη οι τιμές βαρέων μετάλλων των νωπών προϊόντων, χωρίς να ληφθούν υπόψη οι μεταβολές τους κατά την επεξεργασία. Η χρησιμοποίηση των τιμών που αντιστοιχούν στα νωπά προϊόντα μπορεί να υποεκτιμήσει την διαιτητική πρόσληψη σε ορισμένα μέταλλα, όπως το κάδμιο, τα οποία μπορούν να αυξηθούν σημαντικά κατά τη μεταποίηση των τροφίμων. Ως εκ τούτου, είναι επιτακτική ανάγκη να αναθεωρηθεί η μεθοδολογία αξιολόγησης επικινδυνότητας για τα επεξεργασμένα τρόφιμα και να χρησιμοποιούνται οι τιμές των βαρέων μετάλλων των μεταποιημένων τροφίμων ή οι συντελεστές μεταποίησης των βαρέων μετάλλων εφόσον είναι διαθέσιμοι, παράλληλα όμως και οι ποσότητες κατανάλωσης θα πρέπει να αναφέρονται σε μερίδες επεξεργασμένων τροφίμων, έτσι ώστε η ποσότητα διαιτητικής πρόσληψης να προσεγγίζεται με μεγαλύτερη σαφήνεια και να αντανακλά την πραγματική διαιτητική έκθεση του καταναλωτή στα βαρέα μέταλλα.

Κεφάλαιο 20. Οι συντελεστές επεξεργασίας του Cd και Pb

Σύμφωνα με την ευρωπαϊκή και διεθνή νομοθεσία (Codex Alimentarius Πρότυπο 193/1995, κανονισμός της ΕΕ 1881/2006) τα θεσμοθετημένα ανώτατα όρια αναφέρονται σε νωπά τρόφιμα. Προκειμένου αυτά τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα να εφαρμοστούν στα αποξηραμένα, αραιωμένα, μεταποιημένα ή αποτελούμενα από διάφορα συστατικά τρόφιμα, όπου δεν έχουν θεσπιστεί συγκεκριμένα κοινοτικά μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα, θα πρέπει να ορίζονται ειδικό συντελεστές μεταποίησης (συμπύκνωσης ή αραιώσης). Ιδιαίτερα στα τρόφιμα που δεν καταναλώνονται νωπά, στα οποία ανήκει η πλειονότητα των ψαριών και των θαλασσιών, οι συντελεστές μεταποίησης είναι απαραίτητοι για την αξιολόγηση της επικινδυνότητας των τροφίμων αυτών. Ως συντελεστές μεταποίησης ορίζονται οι αριθμητικοί συντελεστές που έχουν προκύψει από την αριθμητική αναλογία:

συγκέντρωση βαρέων μετάλλων του επεξεργασμένου τροφίμου

συγκέντρωση βαρέων μετάλλων του νωπού τροφίμου

Οι συντελεστές μεταποίησης των επεξεργασμένων τροφίμων θα πρέπει να έχουν προκύψει από κατάλληλες πειραματικές μελέτες, οι οποίες θα πρέπει να έχουν λάβει υπόψη τα ακόλουθα (Κανονισμός Ε.Ε. 1881/2006, άρθρο 2, παρ.5):

- α) τις αλλαγές που προκαλούνται από τη διαδικασία ξήρανσης ή αραιώσης στη συγκέντρωση των ουσιών που επιμολύνουν τα τρόφιμα
- β) τις αλλαγές που προκαλούνται από τη μεταποίηση στη συγκέντρωση των ουσιών που επιμολύνουν τα τρόφιμα
- γ) τις σχετικές αναλογίες των συστατικών στο προϊόν (για τρόφιμα με πολλά συστατικά)
- δ) το αναλυτικό όριο του ποσοτικού προσδιορισμού

Οι συγκεκριμένοι συντελεστές συγκέντρωσης ή αραιώσης για τα ξηρά, αραιωμένα, μεταποιημένα ή/και αποτελούμενα από διάφορα συστατικά τρόφιμα παρέχονται και αιτιολογούνται μαζί με τα κατάλληλα ερευνητικά δεδομένα. Οι συντελεστές πρέπει να αναφέρονται στο χρησιμοποιούμενο υπόστρωμα, μέθοδο επεξεργασίας και εξεταζόμενο επιμολυντή του τροφίμου.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, στον παρακάτω πίνακα δίνονται οι προτεινόμενοι συντελεστές μεταποίησης των βαρέων μετάλλων Cd και Pb για τις επεξεργασίες μεταποίησης α) ψήσιμο και β) κονσερβοποίηση.

Πίνακας 20.1. Οι συντελεστές μεταποίησης των δύο μεθόδων επεξεργασίας για τα αλιεύματα σαρδέλα *Sardinia pilchardus*, γάυρο *Engraulis encrasicolus* και καλαμάρι Καλιφόρνιας *Loligo opalescens*.

Είδος τροφίμου	Cd (mg/kg) M.O.	Συντελεστής μεταποίησης Cd	Pb (mg/kg) M.O.	Συντελεστής μεταποίησης Pb
Σαρδέλα				
Νωπή	0,008	-	0,166	-
Ψημένη	0,013	1,6	0,202	1,2
Κονσερβοποιημένη	0,015	1,9	0,230	1,4
Γάυρος				
Νωπός	0,015	-	0,105	-
Ψημένος	0,022	1,5	0,139	1,3
Κονσερβοποιημένος	0,027	1,8	0,150	1,4
Καλαμάρι Καλιφόρνιας (μανδύας)				
Νωπό	0,156	-	0,105	-
Ψημένο	0,529	3,4	0,116	1,1
Κονσερβοποιημένο	0,484	3,1	0,116	1,1
Καλαμάρι Καλιφόρνιας (ολόκληρο)				
Νωπό	0,596	-	0,105	-
Ψημένο	0,824	1,4	0,116	1,1
Κονσερβοποιημένο	0,796	1,3	0,116	1,1

Οι παραπάνω συντελεστές αναφέρονται μόνο στα συγκεκριμένα μέταλλα, υποστρώματα και τύπο επεξεργασίας και μπορούν να αξιοποιηθούν ως:

- αριθμητικοί συντελεστές για τη μετατροπή των ανώτατων ορίων της νομοθεσίας και την αξιολόγηση της επικινδυνότητας των επεξεργασμένων τροφίμων
- αριθμητικοί συντελεστές βαρέων μετάλλων, για τη σωστότερη εκτίμηση της ανάλυσης επικινδυνότητας διαιτητικής πρόσληψης βαρέων μετάλλων, στις περιπτώσεις που οι μερίδες κατανάλωσης αντιστοιχούν σε μαγειρεμένα προϊόντα, ενώ οι τιμές των βαρέων μετάλλων έχουν προκύψει από νωπά προϊόντα.

IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Νωπά ψάρια σαρδέλα-γαύρος

- Η συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα της σαρδέλας βρέθηκε σε χαμηλά επίπεδα και περίπου 12 φορές χαμηλότερα από το ισχύον νομοθετικό όριο της Ευρωπαϊκής Ένωσης (0,1 mg/kg). Συνεπώς, οι σαρδέλες των τριών περιοχών της Μεσογείου (Τυνησία, Αδριατική, Βόρειο Αιγαίο) παρουσιάζουν μικρό κίνδυνο τοξικότητας καδμίου. Αντίθετα, η συγκέντρωση του μολύβδου στις τρεις εξεταζόμενες περιοχές της Μεσογείου βρίσκεται σε μέτρια προς αυξημένα επίπεδα, με τον μέσο όρο να πλησιάζει το 50% του νομοθετικού ορίου για ασφαλή κατανάλωση. Επομένως, τα επίπεδα μολύβδου στη σαρδέλα πρέπει να βρίσκονται υπό τακτική παρακολούθηση, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η προστασία των καταναλωτών από πιθανή έκθεση στο μέταλλο αυτό.

- Το οστό της σαρδέλας βρέθηκε πολλαπλάσια επιβαρυνμένο με κάδμιο και μόλυβδο από τη σάρκα. Συμπεραίνεται ότι στη σαρδέλα ο συνδετικός ιστός αποτελεί το κύριο σημείο συσσώρευσης των μετάλλων αυτών και επομένως, όταν το οστό προορίζεται έμμεσα ή άμεσα για κατανάλωση, βασικό μέλημα θα πρέπει να είναι ο έλεγχος για κάδμιο και μόλυβδο. Επιπλέον, οι μετρήσεις καταλοίπων βαρέων μετάλλων στα αλιεύματα που καταναλώνονται ολόκληρα θα πρέπει να συμπεριλαμβάνουν το οστό μαζί με το υπόλοιπο ψάρι.

- Η συγκέντρωση του καδμίου και του μολύβδου επηρεάστηκε από την περιοχή δειγματοληψίας. Τα αλιεύματα από τον κόλπο της Τυνησίας παρουσίασαν τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις καδμίου και μολύβδου, ενώ το Βόρειο Αιγαίο τις υψηλότερες συγκεντρώσεις των μετάλλων αυτών.

- Το κάδμιο επηρεάστηκε σημαντικά από την εποχή αλίευσης. Η τάση των εν λόγω μετάλλων είναι να αυξάνονται προς το τέλος του έτους. Συνιστάται η τακτική παρακολούθηση της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η ασφάλεια και η προστασία των καταναλωτών.

- Από τη μελέτη της αλληλεπίδρασης των ανεξάρτητων μεταβλητών φαίνεται ότι στον μόλυβδο, η ημερομηνία και η περιοχή αλίευσης παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση και άρα θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη και οι δύο παράμετροι όταν εξετάζεται η συγκέντρωση μολύβδου στα αλιεύματα της σαρδέλας. Αντίστοιχα στο κάδμιο, οι μεταβλητές που παρουσίασαν σημαντική αλληλεπίδραση ήταν η ημερομηνία και η περιοχή αλίευσης.
- Το μέγεθος των αλιευμάτων σαρδέλας επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση του μολύβδου. Η σχέση μεταξύ συγκέντρωσης μολύβδου και μεγέθους σαρδέλας βρέθηκε αντίστροφη, δηλαδή η συγκέντρωση του μολύβδου μειώθηκε στα ψάρια μεγαλύτερου μεγέθους. Το κάδμιο δεν επηρεάστηκε από το μέγεθος των αλιευμάτων.
- Η συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα του γαύρου βρέθηκε σε χαμηλά επίπεδα. Ο μέσος όρος ήταν 20 φορές χαμηλότερα από το ισχύον νομοθετικό όριο της Ευρωπαϊκής Ένωσης (0,3 mg/kg). Επομένως οι γαύροι του είδους *Engraulis encrasicolus* των τριών αλιευτικών ζωνών της Ελλάδας (Θερμαϊκός-Χαλκιδική-Θρακικό πέλαγος) παρουσίασαν χαμηλό κίνδυνο τοξικότητας.
- Η συγκέντρωση του μολύβδου στη σάρκα του γαύρου βρέθηκε κοντά στο 1/3 του ισχύοντος νομοθετικού ορίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης (0,3 mg/kg). Συνεπώς, ο γαύρος παρουσίασε μέτρια επίπεδα συγκέντρωσης μολύβδου, τα οποία δεν ξεπέρασαν τα νομοθετικά όρια, απαιτούν όμως, όπως και στην περίπτωση της σαρδέλας, τακτική παρακολούθηση ώστε να εξασφαλίζεται η προστασία της υγείας των καταναλωτών.
- Το οστό του γαύρου συγκέντρωσε σημαντική ποσότητα καδμίου και μολύβδου, έως και 8 φορές περισσότερο από τη σάρκα. Αξίζει να σημειωθεί ότι στο οστό η μέγιστη τιμή μολύβδου ξεπέρασε 6,5 φορές το ευρωπαϊκό νομοθετικό όριο ασφαλείας της Ευρωπαϊκής Ένωσης (0,3 mg/kg). Επομένως, όπως και στη σαρδέλα, συνιστάται ιδιαίτερη προσοχή στην κατανάλωση οστού, λόγω αυξημένης συσσώρευσης καδμίου και μολύβδου.

- Η περιοχή αλίευσης επέδρασε σημαντικά στη συγκέντρωση του καδμίου στο γαύρο. Ο Θερμαϊκός και η Χαλκιδική παρουσίασαν παρόμοιες συγκεντρώσεις καδμίου, ενώ το Θρακικό πέλαγος παρουσίασε αυξημένη συγκέντρωση καδμίου σε σχέση με τις άλλες δύο περιοχές.
- Η ημερομηνία αλίευσης δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση καδμίου και μολύβδου στο γαύρο. Παρατηρήθηκαν διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων κατά τη διάρκεια του έτους. Επομένως, κρίνεται αναγκαία η τακτική παρακολούθηση των μετάλλων αυτών, ιδιαίτερα όταν εντοπιστούν κοντά στα όρια ασφαλείας προς κατανάλωση, καθώς τυχόν εποχικές διαφορές μπορούν να καταστήσουν τα αλιεύματα αυτά ακατάλληλα προς κατανάλωση.
- Το μέγεθος των αλιευμάτων δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση του καδμίου και του μολύβδου στο γαύρο. Μελλοντικά, περισσότερα επιστημονικά δεδομένα πάνω στη σχέση συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων και μεγέθους αλιευμάτων θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμα, καθώς θα μπορούσαν να δώσουν απαραίτητα στοιχεία για την καταλληλότητα των αλιευμάτων σε διαφορετικά εμπορικά μεγέθη αλίευσης.
- Η στατιστική ανάλυση σχετικά με τη σύγκριση των συγκεντρώσεων μολύβδου στον γαύρο σε σχέση με τη σαρδέλα έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ειδών. Τα δείγματα σαρδέλας παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις μολύβδου και μικρότερες συγκεντρώσεις καδμίου από το γαύρο. Η διαφορά αποδίδεται, κυρίως στη διαφορετική εποχή δειγματοληψίας, στα διαφορετικά σημεία αλίευσης των δύο ειδών, αλλά και σε διαφορές στη φυσιολογία μεταξύ των δύο ειδών ψαριού.

Η επίδραση της επεξεργασίας στα ψάρια

- Κατά την επεξεργασία των ψαριών, η συγκέντρωση του καδμίου και του μολύβδου αυξήθηκε σημαντικά, τόσο στη σαρδέλα, όσο και στο γαύρο. Τα επίπεδα καδμίου ήταν σημαντικά υψηλότερα και στους δύο τύπους επεξεργασίας (ψήσιμο και κονσερβοποίηση) σε σύγκριση με τα νωπά προϊόντα.
- Η μέση αύξηση της συγκέντρωσης του καδμίου στις σαρδέλες ήταν 37,5% μετά το ψήσιμο και +87,5% μετά την κονσερβοποίηση, ενώ αντίστοιχα για τον γαύρο η συγκέντρωση του καδμίου αυξήθηκε κατά 40% μετά το ψήσιμο και το 80% μετά την κονσερβοποίηση.
- Η συγκέντρωση του μολύβδου αυξήθηκε σημαντικά με την επεξεργασία, αν και η αύξηση του μολύβδου ήταν χαμηλότερη από εκείνη του καδμίου. Ο μόλυβδος στη σαρδέλα αυξήθηκε κατά 17,6% μετά το ψήσιμο και το 35,3% μετά την κονσερβοποίηση. Στο γαύρο, τα ποσοστά που καταγράφηκαν ήταν +27,2% μετά το ψήσιμο και +36,4% μετά την κονσερβοποίηση.
- Κατά την επεξεργασία του ψησίματος και της κονσερβοποίησης καταγράφηκε μείωση στο βάρος των δειγμάτων. Η απώλεια βάρους οφείλεται κυρίως στην απώλεια της υγρασίας κατά το ψήσιμο και το κονσερβοποίηση. Η απώλεια υγρασίας δικαιολογεί σε κάποιο βαθμό την αύξηση των βαρέων μετάλλων, καθώς οδηγεί σε συρρίκνωση των ιστών μετά την επεξεργασία.
- Τόσο στη σαρδέλα, όσο και στο γαύρο, παρατηρήθηκε μια περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων, σε σύγκριση με την απώλεια της υγρασίας. Η επιπλέον αύξηση στην συγκέντρωση βαρέων μετάλλων μετά το ψήσιμο και την κονσερβοποίηση πιθανόν να σχετίζεται με την εφαρμογή των συνθηκών υψηλής θερμικής και υψηλής πίεσης που οδηγούν την ενσωμάτωση ενός σημαντικού τμήματος του ιστού των οστών στον μυϊκό ιστό του ψαριού.

- Από την πλευρά της διαιτητικής πρόσληψης και των κινδύνων της δημόσιας υγείας, τόσο το ψήσιμο, όσο και η κονσερβοποίηση προκάλεσαν αύξηση στη συγκέντρωση του καδμίου και του μολύβδου, βάσει της μέγιστης ανεκτής εβδομαδιαίας πρόσληψης σε Ελληνικό και ευρωπαϊκό επίπεδο, δεν υπάρχει καμία ένδειξη σημαντικών κινδύνων που συνδέονται με την κατανάλωση αυτών των τροφίμων.
- Οι συντελεστές μεταποίησης του καδμίου και του μολύβδου που υπολογίστηκαν, είναι απαραίτητοι για την αξιολόγηση της ασφάλειας των ψημένων και κονσερβοποιημένων προϊόντων, ενώ θα ήταν επιπλέον και εξαιρετικά χρήσιμοι σε μια αναθεωρημένη μεθοδολογία αξιολόγησης διατροφικής έκθεσης σε βαρέα μέταλλα, η οποία να συνδυάζει τη σωστή εκτίμηση των μεγεθών γεύματος με βάση μαγειρεμένα ψάρια και τις συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων από μαγειρεμένα ή κονσερβοποιημένα ψάρια. Η αναθεώρηση αυτή κρίνεται απαραίτητη για την ακριβέστερη προσέγγιση της εκτίμησης επικινδυνότητας τροφίμων σε πληθυσμούς υψηλού κινδύνου, καθώς η χρήση των συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων από νωπά δείγματα, μπορεί να υποεκτιμήσει την επικινδυνότητα πρόσληψης, εφόσον η πλειονότητα των ψαριών αυτών καταναλώνεται μετά από οικιακή ή βιομηχανική μεταποίηση.

Νωπό καλαμάρι *Loligo opalescens*

- Στην περίπτωση των νωπών καλαμαριών του είδους *Loligo opalescens*, οι τιμές για το κάδμιο στον μανδύα και στο ολόκληρο καλαμάρι ήταν γενικά σε χαμηλά επίπεδα και σε συμφωνία με τα προηγούμενα δημοσιευμένα αποτελέσματα. Τα δείγματα δεν ξεπέρασαν τις μέγιστες τιμές που καθορίζονται από την Ευρωπαϊκή Κοινότητα και, επομένως, σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι συγκεντρώσεις καδμίου στο νωπό καλαμάρι *Loligo opalescens* δεν εμπνέουν ανησυχία σχετικά με την ασφαλή κατανάλωσή του.

- Οι τιμές στο εντόσθιο ήταν σημαντικά υψηλότερες από το μανδύα και το ολόκληρο καλαμάρι, επιβεβαιώνοντας και την ελαττώμενη σειρά συγκέντρωσης σπλάχνα >> σύνολο > μανδύα. Κατά συνέπεια, στο καλαμάρι Καλιφόρνιας το εντόσθιο αποτελεί τον κύριο ιστό συσσώρευσης για το κάδμιο. Η κατανάλωσή του θα πρέπει να αποφεύγεται, ιδιαίτερα από ευάλωτες πληθυσμιακά ομάδες.

- Η σηπία παρουσίασε πολύ υψηλά επίπεδα καδμίου, αποδεικνύοντας ότι ο ιστός αυτός διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό συσσώρευσης του μετάλλου αυτού. Ως εκ τούτου, προτείνεται ότι η σηπία πρέπει να επιλέγεται με προσοχή, όταν χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη για την παραγωγή συστατικών, όπως είναι η χιτοζάνη.

- Όσον αφορά στο μόλυβδο, οι συγκεντρώσεις για το νωπό καλαμάρι τόσο στο μανδύα, όσο και στο ολόκληρο καλαμάρι κυμάνθηκαν σε χαμηλά επίπεδα. Κανένα δείγμα δεν ξεπέρασε το νομοθετικό όριο ασφαλείας της Ε.Ε. (0,5 mg/kg), οπότε δεν φαίνεται να υπάρχει κίνδυνος τοξικότητας μολύβδου από την κατανάλωση αυτού του τροφίμου.

- Σχετικά με το προφίλ κατανομής του μολύβδου, τα στοιχεία έδειξαν ο μόλυβδος κατανέμεται ομοιόμορφα σε όλους τους ιστούς του καλαμαριού, γεγονός που αποδεικνύει ότι ο μηχανισμός συσσώρευσης και αποθήκευσης των βαρέων μετάλλων εξαρτάται σημαντικά από τον τύπο και τις χημικές ιδιότητες του κάθε βαρέως μετάλλου.

Η επίδραση της επεξεργασίας στο καλαμάρι *Loligo opalescens*

- Η έρευνα για τις επιπτώσεις επεξεργασίας στη συγκέντρωση καδμίου στο καλαμάρι *Loligo opalescens* (καλαμάρι Καλιφόρνιας) αποκάλυψε μια σημαντική αύξηση στην ποσότητα του καδμίου μετά την επεξεργασία, φθάνοντας σε ποσοστά πάνω από 200% στον ιστό αυτό, μετά το ψήσιμο και την κονσερβοποίηση.
- Στα δείγματα του ολόκληρου καλαμαριού, η συγκέντρωση του καδμίου αυξήθηκε επίσης σημαντικά, σημειώνοντας αύξηση κατά 140 % στο ψημένο και 130 % στο κονσερβοποιημένο προϊόν, σε σύγκριση με τα νωπά δείγματα.
- Από την άλλη πλευρά, το κάδμιο στο εντόσθιο μέρος του καλαμαριού έδειξε μια σημαντική μείωση. Το ποσοστό της μείωσης που καταγράφηκε ήταν περισσότερο από -180 % κάτι που απεικονίζει απώλεια του καδμίου από αυτό τον ιστό και την μεταφορά του στους άλλους ιστούς του καλαμαριού.
- Η διερεύνηση της πιθανής συσχέτισης μεταξύ της αύξησης του καδμίου και της μείωσης της περιεχόμενης υγρασίας έδειξε ότι η απώλεια υγρασίας επηρεάζει τη μεταβολή στη συγκέντρωση του καδμίου στη σάρκα, ολόκληρο και εντόσθιο κατά την επεξεργασία.
- Η σύγκριση μεταξύ της συγκέντρωσης καδμίου στους διάφορους ιστούς και στην υγρασία του ψημένου και κονσερβοποιημένου καλαμαριού επιβεβαίωσε την έλλειψη στατιστικά σημαντικών διαφορών ανάμεσα στα δύο είδη επεξεργασίας, κάτι που σημαίνει ότι το ψήσιμο ως ανεξάρτητη επεξεργασία αλλά και ως ενδιάμεσο στάδιο της βιομηχανικής κονσερβοποίησης έφερε τις σημαντικότερες αλλαγές στις παραπάνω παραμέτρους. Η τάση αυτή καταγράφηκε και για τον μόλυβδο.
- Στην περίπτωση του μολύβδου, τα αποτελέσματα έδειξαν μικρή αύξηση, στατιστικά όμως δεν εντοπίστηκαν εμφανείς διαφορές στους εδώδιμους ιστούς πριν και μετά την επεξεργασία. Καθώς η απώλεια υγρασίας προκαλεί συρρίκνωση των ιστών μετά την επεξεργασία, η συμπεριφορά του μολύβδου υποδεικνύει

προφανώς ένα ποσοστό απελευθέρωσής του κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Η θεωρία αυτή επιβεβαιώθηκε από μετρήσεις της συγκέντρωσης του μολύβδου στο υγρό πλήρωσης πριν και μετά το τέλος της κονσερβοποίησης.

- Η έρευνα σχετικά με τη συγκέντρωση των μεταλλοθειονινών πριν και μετά από κάθε διαδικασία επεξεργασίας αποκάλυψε ότι σε όλους τους ιστούς που εμπλέκονται, οι μεταλλοθειονίνες ακολουθούν το ίδιο προφίλ κατανομής με το κάδμιο. Η ομοιότητα στη συμπεριφορά του καδμίου και των μεταλλοθειονινών σημαίνει ότι η ανακατανομή του καδμίου στους διάφορους ιστούς συνδέεται στενά με την ανακατανομή των πρωτεϊνών αυτών πριν και μετά την επεξεργασία.
- Θεωρείται λοιπόν ότι το σύμπλοκο Cd - MT μεταφέρεται από το εντόσθιο μέρος στο μυϊκό ιστό του καλαμαριού. Έτσι οι μεταλλοθειονίνες διαδραματίζουν πρωταρχικό ρόλο στην αύξηση της συγκέντρωσης του καδμίου μετά την επεξεργασία των καλαμαριών.
- Θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι η απομάκρυνση του εντόσθιου μέρος του καλαμαριού πριν από την επεξεργασία θα μειώσει την ποσότητα του συμπλόκου Cd - MT και άρα την επιβάρυνση του μυϊκού ιστού με κάδμιο κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, και την εξάλειψη του κινδύνου υψηλότερης διαιτητικής πρόσληψης καδμίου στα επεξεργασμένα καλαμάρια.
- Η εκτίμηση της μέγιστης ανεκτής εβδομαδιαίας διαιτητικής πρόσληψης καδμίου και μολύβδου στον ελληνικό και ευρωπαϊκό πληθυσμό αποκάλυψε ότι παρόλο που δεν καταγράφεται άμεσος κίνδυνος διαιτητικής τοξικότητας από κατανάλωση σαρδέλας, γαύρου ή καλαμαριού Καλιφόρνιας, η χρησιμοποίηση των τιμών που αναφέρονται στα νωπά αλιεύματα μπορεί να οδηγήσει σε υποεκτίμηση της διαιτητικής έκθεσης σε κάδμιο και μόλυβδο. Είναι επομένως προτιμότερο να αναθεωρηθεί η μεθοδολογία που χρησιμοποιείται για την εκτιμώμενη διαιτητική πρόσληψη των βαρέων μετάλλων, λαμβάνοντας υπόψη το περιεχόμενο των μεταποιημένων θαλασσινών. Πράγματι, η εκτίμηση του κινδύνου σε αυτή την περίπτωση θα βρίσκεται πιο κοντά στην πραγματικότητα, εφόσον θα βασίζεται σε πειραματικά δεδομένα των μεταποιημένων θαλασσινών.

- Οι συντελεστές επεξεργασίας των βαρέων μετάλλων που υπολογίστηκαν και στην παρούσα μελέτη, θα μπορούσαν να διαδραματίσουν έναν σημαντικό ρόλο στην αξιολόγηση της επικινδυνότητας των μεταποιημένων θαλασσινών, αλλά και των ψαριών. Μια σημαντική πτυχή των συντελεστών μεταποίησης είναι η υποχρεωτική εφαρμογή τους στους επισήμους ελέγχους των προϊόντων κεφαλόποδων που έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία. Η μελλοντική έρευνα σε αυτόν τον τομέα της έρευνας είναι επιτακτική ανάγκη, ώστε να βελτιωθεί η μεθοδολογία της εκτίμησης επικινδυνότητας διατροφικής πρόσληψης των βαρέων μετάλλων και άλλων τοξικών ουσιών και κατά συνέπεια, η καλύτερη διασφάλιση της υγείας των καταναλωτών.

V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abou-Arab A.A.K., Ayesh A.M., Amra H.A., Naguib K., (1996). Characteristic levels of some pesticides and heavy metals in imported fish. *Food Chemistry*, 57:487-492.
2. Adekunle I.M., and Akinyemi M.F., (2004). Lead levels of certain consumer products in Nigeria: a case study of smoked fish foods from Abeokuta. *Food and Chemical Toxicology*, 42 (9): 1463-1468.
3. Amiard J.C., Amiard-Triquet C., Barka S., Pellerin J., and Rainbow P.S., (2006). Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquatic toxicology* 76(2):160-202.
4. Amzal, B., Julin B., Vahter M., Wolk A., Johanson G., & Åkesson A., (2009). Population toxicokinetic modeling of cadmium for health risk assessment. *Environmental health perspectives*, 117(8):1293-1301.
5. Appenroth KJ., (2010). Definition of “Heavy Metals” and Their Role in Biological Systems. *Soil Heavy Metals Soil Biology*, 19:19-29.
6. Arctic Monitoring and Assessment Programme-AMAP, (1998). AMAP Assessment Report: Arctic Pollution Issues., Oslo, Norway. Chapter 7: 391-394.
7. Ashraf W., Seddigi Z., Abulkibash A., and Khalid M., (2006). Levels of Selected Metals In Canned Fish Consumed In Kingdom Of Saudi Arabia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 117: 271–279.
8. Association of Official Analytical Chemists-AOAC., (2000). Official method 999.10: lead, cadmium, zinc, copper and iron in foods. *J AOAC Int.* 831189–1192.
9. Atta MB., El-Sebaie LA., Noaman M.A., and Kassab H.E., (1997). The effect of cooking on the content of heavy metals in fish (*Tilapia nilotica*). *Food Chemistry*, 58 (1-2):1-4.
10. Australia New Zealand Food Standards Code. Issue 103 Standard 1.4.1: Contaminants And Natural Toxicants. Available from: http://www.foodstandards.gov.au/srcfiles/Standard_1_4_1_Contaminants_v10_9.pdf
11. Baudrimont M., Metivaud J., Brachet R.M., Ribeyre F., and Boudou A., (1997). Bioaccumulation and metallothionein response in the Asiatic clam (*corbicula fluminea*) after experimental exposure to cadmium and inorganic mercury. *Environmental toxicology and chemistry*, 16(10):2096-2105.

12. Bedianno M.J., and Langston W.J., (1991). Metallothionein induction in *Mytilus edulis* exposed to cadmium. *Marine Biology*, 108:91-96.
13. Bedianno M.J., Nott J.A., Langston W.J., (1993). Cadmium metabolism in the clam *Ruditapes decussata*: the role of metallothioneins. *Aquatic Toxicology*, 27:315-334.
14. Bekhit, A. E. D. A., Morton, J. D., & Dawson, C. O. (2008). Effect of Processing Conditions on Trace Elements in Fish Roe from Six Commercial New Zealand Fish Species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(12), 4846-4853.
15. Bratt, L., (2010). *Fish canning handbook*. Wiley-Blackwell, Hoboken.
16. Burger J. and Gochfeld, M.: (2005). Heavy metals in commercial fish in New Jersey. *Environmental Research*, 99: 403-412.
17. Burger J., and Gochfeld, M., (2004). Mercury in canned tuna: white versus light and temporal variation. *Environmental research* 96: 239-249.
18. Burger J., Dixon C., Boring C.S., (2003). Effect of deep-frying fish on risk from mercury. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*, 66:817-828.
19. Burger J., Gaines KF, Boring CS, Stephens Jr WL, Snodgrass J, Gochfeld M., (2001). Mercury and selenium in fish from the Savannah River: species, trophic level and locational differences. *Environmental Research*, 87:108–118.
20. Bustamante P., Caurant F., Fowler S.W., and Miramand P., (1998a). Cephalopods as a vector for the transfer of cadmium to top marine predators in the north – east Atlantic Ocean. *The science of the total Environment*, 220:71-80.
21. Bustamante P., Cosson R.P., Gallien I., Caurant F. and Miramand P., (2002). Cadmium detoxification process in the digestive gland of cephalopods in relation to accumulated cadmium concentrations. *Marine Environmental Research* 53, 227-241.
22. Bustamante, P., Cherel, Y., Caurant, F., And Miramand, P., (1998b). Cadmium, copper and zinc in octopuses from Kerguelen Islands, Southern Indian Oceanic *Polar Biology*, 19, 264 –271.
23. Bustamante, P., Grigioni, S., Boucher-Rodoni, R., Caurant, F., & Miramand, P. (2000). Bioaccumulation of 12 Trace Elements in the Tissues of the Nautilus *Nautilus macromphalus* from New Caledonia. *Marine Pollution Bulletin*, 40(8): 688-696.

24. Canli M., and Atli G., (2003). The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental Pollution*, 121:129-136.
25. Çelik U., and Oehlenschläger J., (2007). High contents of cadmium, lead, zinc and copper in popular fishery products sold in Turkish supermarkets. *Food Control*, 18(3):258-261.
26. Chandumpai, A., Singhpibulporn, N., Faroongsarng, D., & Sornprasit, P. (2004). Preparation and physico-chemical characterization of chitin and chitosan from the pens of the squid species, *Loligo lessoniana* and *Loligo formosana*. *Carbohydrate Polymers*, 58(4): 467-474.
27. Coyle P., Philcox J.C., Carey L.C., and Rofe A.M., (2002). Metallothionein: the multipurpose protein. *Cell Molecular Life Science*, 59: 627-647.
28. Craig, S., and Overnell, J., (2003). Metals in squid, *Loligo forbesi*, adults, eggs and hatchlings. No evidence for a role for Cu-or Zn-metallothionein. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 134(3):311-317.
29. Dalman Ö., Demirak A., and Balcı A., (2006). Determination of heavy metals (Cd, Pb) and trace elements (Cu, Zn) in sediments and fish of the Southeastern Aegean Sea (Turkey) by atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry* 95:157-162.
30. De Moreno J.E.A., Moreno V.J., Ricci L., Roldán M., Gerpe M., (1998). Variations in the biochemical composition of the squid *Illex argentinus* from the South Atlantic Ocean. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 119: 631-637.
31. Dennis R.W., and Rajagopalan K.V., (1972). Purification and some properties of Cd-binding protein from rat liver. *Archives of biochemistry and biophysics*, 153:755-762.
32. Depledge M.H., and Rainbow P.S., (1990). Models of regulation and accumulation of trace metals in marine invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology* 96C:1-7.
33. Desideri D., Meli M.A., and Roselli C., (2010). A biomonitoring study: ²¹⁰Po and heavy metals in marine organisms from the Adriatic Sea (Italy). *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 285:373-382.

34. Devesa V., Macho M.L., Jalón M., Urieta I., Muñoz O., Súañer M.A., López F., Vélez D., Montoro R., (2001). Arsenic in Cooked Seafood Products: Study on the Effect of Cooking on Total and Inorganic Arsenic Contents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (8):4132–4140.
35. Devesa V., Vélez D., and R. Montoro (2008). Effect of thermal treatments on arsenic species contents in food. *Food and Chemical Toxicology*, 46:1–8
36. Dorneles, P. R., Lailson-Brito, J., dos Santos, R. A., Silva da Costa, P. A., Malm, O., Azevedo, A. F., & Machado Torres, J. P., (2007). Cephalopods and cetaceans as indicators of offshore bioavailability of cadmium off Central South Brazil Bight. *Environmental Pollution*, 148(1), 352-359.
37. Douben, P. E. (1989). Lead and cadmium in stone loach (*Noemacheilus barbatulus* L.) from three rivers in derbyshire. *Ecotoxicology and environmental safety*, 18(1), 35-58.
38. Dragun Z., Erk M., Rspor B., Ivanković D., and Pavičić J., (2004). Metal and metalloproteins level in the heat-treated cytosol of gills of transplanted mussels *Mytilus galloprovincialis* Lmk. *Environmental International*, 30:1019-1025
39. Eboh L., Mepba H.D., and Ekpo M.B., (2006). Heavy metal contaminants and processing effects on the composition, storage stability and fatty acid profiles of five common commercially available fish species in Oron Local Government, Nigeria. *Food Chemistry*, 97: 490-497.
40. Emami Khansari F, Ghazi-Khansari M. and Abdollahi M., (2005). Heavy metals content of canned tuna fish. *Food Chemistry* 93: 293-296.
41. Engel D.W., and Brouwer M., (1993). Crustaceans as Models for Metal Metabolism: I. Effects of the Molt Cycle on Blue Crab Metal Metabolism and Metallothionein. *Marine Environmental Research*, 35:1-5
42. Ersoy B., Yanar Y., Küçükgülmez A., and Çelik M., (2006). Effects of four cooking methods on the heavy metal concentrations of sea bass fillets (*Dicentrarchus labrax* Linne, 1785). *Food Chemistry*, 99(4):748-751.
43. European Commission Decision 657/2002/EC implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (cited 2002 Aug 12).
44. European Commission Regulation 1881/2006/EC setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Cited 2006 Dec 19).

45. European Commission Regulation 629/2008/EC amending Regulation 1881/2006/EC setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Cited 2008 Jul 02).
46. European Environmental Agency-EEA., (2006). Priority issues in the Mediterranean environment. European Environment Agency, Copenhagen, p:10-12.
47. European Food Safety Authority-EFSA, (2009). Scientific Opinion on Cadmium in food: Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain (Question No EFSA-Q-2007-138). EFSA Journal, 980: 59-139.
48. European Food Safety Authority-EFSA, (2010). Scientific Opinion on Lead in Food. EFSA Journal, 4:1570-1717.
49. Falandysz J., (1989). Trace metal levels in the raw and tinned squid *Loligo patagonica*. Food Additives and Contaminants, 6: 483-488.
50. Falandysz J., (1991). Concentrations of trace metals in various tissues of the Squid *Loligo opalescens* and their redistribution after canning. Journal of the Science of Food and Agriculture, 54:79 –87.
51. Falandysz, J., (1988). Trace metals in squid *Illex argentinus*. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, 187(4): 359-361.
52. Falcó, G., Llobet, J. M., Bocio, A., & Domingo, J. L., (2006). Daily intake of arsenic, cadmium, mercury, and lead by consumption of edible marine species. Journal of agricultural and food chemistry, 54(16), 6106-6112.
53. Food and Agriculture Organization of the United Nations/ Codex Alimentarius Commission-FAO/WHO (1995). Codex General Standard for Contaminants And Toxins In Food And Feed. Available from: /download/standards/17/CXS_193e.pdf
54. Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO, (2006a). Fisheries and Aquaculture Department. Fishery Statistical Collections. Yearbooks of Fishery Statistics, 2006.
55. Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO, (2006b). Jereb, P.; Roper, C.F.E. (eds). Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date. FAO Species Catalogue for Fishery Purposes. No. 4, Vol. 1. Rome.

56. Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO, (2013). Fisheries and Aquaculture Department. Species Fact Sheets *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792). Available from: <http://www.fao.org/fishery/species/2910/en>
57. Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO, (2010). Fisheries and Aquaculture Department. Fishery Statistical Collections. Yearbooks of Fishery Statistics, 2010.
58. Forouzanfar, F., Askari Sari, A., & Chelemaal Dezfool Nezhad, M. (2013). The Effect of Steamed and Microwaved Cooking on the Levels of Heavy Metals; Lead and Mercury in the *Cyprinus carpio*'s Muscle. *Nature & Science*, 11(6): 25-28.
59. Fowler S.W., (1986). Heavy metal monitoring of pelagic organisms from the open Mediterranean Sea. *Environmental Monitoring and Assessment*, 7:59-78
60. Francesconi, K. A., Moore, E. J., & Joll, L. M. (1993). Cadmium in the saucer scallop, *Amusium balloti*, from Western Australian waters: Concentrations in adductor muscle and redistribution following frozen storage. *Marine and Freshwater Research*, 44(6): 787-797.
61. Georgantelis D., Papaavergou E., Tsoumbaris P. and Katsouyannopoulos V., (2001). Determination of heavy metals in canned cephalopods. Paper presented at 485 7th International Conference on Environmental Science and Technology 2001; Syros, Greece.
62. Gerpe, M. S., De Moreno, J. E. A., Moreno, V. J., and Patat, M. L. (2000). Cadmium, zinc and copper accumulation in the squid *Illex argentinus* from the Southwest Atlantic Ocean. *Marine Biology*, 136(6):1039-1044.
63. Ghoshal K., Majumder S., Li Z., Bray T.M., and Jacob S.T., (1999). Transcriptional Induction of Metallothionein-I and -II Genes in the Livers of Cu,Zn-Superoxide Dismutase Knockout Mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 264(3):735-742.
64. Glanze, W.D. (1996). *Mosby Medical Encyclopedia, Revised Edition*. St. Louis, MO: C.V. Mosby.
65. Griffin T. B., and Knelson J. M. (1975). *Lead*. George Thieme Publishers, Stuttgart; Academic Press New York, San Francisco, London, pp:6-20.
66. Hamza-Chaffai A., Cosson R.P., Amiard-Triquet C., and El Abed A., (1995). Physico-chemical forms of storage of metals (Cd, Cu and Zn) and metallothionein-like proteins in gills and liver of marine fish from the Tunisian

- coast: ecotoxicological consequences. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 111(2): 329-341
67. Hansen B.H., Romma S., Garmo O.A., Pedersen S.A., Olsvik P.A., and Andersen R.A., (2007). Induction and activity of oxidative stress-related proteins during waterborne Cd/Zn exposure in brown trout (*Salmo trutta*). *Chemosphere* 67:2241-2249
 68. Henkel G., and Krebs B., (2004). Metallothioneins: zinc, cadmium, mercury and copper thiolates and selenolates mimicking protein active site features – structural aspects and biological implications. *Chemical Reviews*, 104:801-824
 69. Hornung H., and Kress N., (1991). Trace elements in offshore and inshore fish from the Mediterranean coast of Israel. *Toxicological and Environmental chemistry*, 31-32: 135-145.
 70. Houlbrèque, F., Hervé-Fernández, P., Teyssié, J. L., Oberhaensli, F., Boisson, F., & Jeffree, R. (2011). Cooking makes cadmium contained in Chilean mussels less bioaccessible to humans. *Food chemistry*, 126(3), 917-921.
 71. Ikem A., and Egiebor N.O., (2005). Assessment of trace elements in canned fishes (mackerel, tuna, salmon, sardines and herrings) marketed in Georgia and Alabama (United States of America). *Journal of Food Composition and Analysis* 18: 771-787.
 72. International Cadmium Association-ICdA., (2006): Cadmium consumption by end uses. International Cadmium Association, Brussels, Belgium.
 73. Iwegbue C.M.A., Nwajei G.E., Arimoro F.O., and Eguavoen O., (2009). Characteristic levels of heavy metals in canned sardines consumed in Nigeria. *Environmentalist*, 29 (4): 431-435.
 74. Jeffrey S. L., and Kenneth L. W., (1980). A Review of the Health Effects of Cadmium. *American Journal of Industrial Medicine* 1:307-317.
 75. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants Expert Committee on Food Additives-JESFA, (Issued 7 July 2006). Available from: <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summaries/summary67.pdf>
 76. Kalogeropoulos, N., Karavoltzos, S., Sakellari, A., Avramidou, S., Dassenakis, M., & Scoullou, M. (2012). Heavy metals in raw, fried and grilled Mediterranean finfish and shellfish. *Food and Chemical Toxicology*, 50(10):3702–3708.

77. Karavoltsos S., Sakellari A., and Scoullou M., (2003). Cadmium exposure of the Greek population. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71:1108-1115.
78. Kimura M., Otaki N., Yoshiki S., Suzuki M., Horiuchi N., and Suda T., (1974). The isolation of metallothionein and its protective role in cadmium poisoning. *Archives of biochemistry and biophysics*, 165:340-348.
79. Kjellström T., (1992). Mechanism and epidemiology of bone effects of cadmium. In: *Cadmium in the Human Environment: Toxicity and Carcinogenicity* (Nordberg G, Alessio L, Herber R, eds). IARC Scientific Publications, 118:301–310.
80. Kojadinovic J., Potier M., Le Corre M., Cosson R.P., Bustamante P., (2007). Bioaccumulation of trace elements in pelagic fish from the Western Indian Ocean. *Environmental Pollution*, 146: 548-566.
81. Linde A.R., Sañchez-Galán S., Vallejos-Mota P., and Garcera-Vázquez E., (2001). Metallothionein as Bioindicator of Freshwater Metal Pollution: European Eel and Brown Trout. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49:60-63
82. Llobet J.M., Falcó G., Casas C., Teixidó A., and Domingo J.L., (2003). Concentrations of Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead in Common Foods and Estimated Daily Intake by Children, Adolescents, Adults, and Seniors of Catalonia, Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3):38–842.
83. Lourenço, H. M., Anacleto, P., Afonso, C., Ferraria, V., Martins, M. F., Carvalho, M. L., & Nunes, M. L., (2009). Elemental composition of cephalopods from Portuguese continental waters. *Food Chemistry*, 113(4):1146-1153.
84. Mahalakshmi, M., Balakrishnan, S., Indira, K., and Srinivasan, M., (2012). Characteristic levels of heavy metals in canned tuna fish. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, 42(2):43-45.
85. Manso M., Carvalho M.L., and Nunes M.L., (2007). Characterization of essential and toxic elements in cephalopod tissues by EDXRF and AAS. *X Ray Spectrometry*, 36:413-418.
86. Marcotrigiano G.O., and Storelli, M.M., (2003). Heavy metal, Polychlorinated Biphenyl and Organochlorine Pesticide Residues in Marine Organisms: Risk Evaluation for Consumers. *Veterinary Research Communications*, 27: 183-195.

87. Marin, M., Droga Kolinska, F. I., Polak, T., Gasperlin, L., and Zlender, B. (2010). Variations in the fatty acid composition and nutritional value of Adriatic sardine (*Sardina pilchardus* Walb.) through the fishing season. *Acta agriculturae Slovenica*, 96(2): 95-101.
88. Marti-Cid R., Llobet J.M., Castell V., and Domingo J., (2008). Dietary Intake of Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead by the Population of Catalonia, Spain. *Biological Trace Element Research*, 125(2):120-132.
89. Miramand P., and Guary J.C., (1980). High concentrations of some heavy metals in tissues of the Mediterranean octopus. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 24:783-788.
90. Miramand, P., and Bentley, D., (1992). Concentration and distribution of heavy metals in tissues of two cephalopods, *Eledone cirrhosa* and *Sepia officinalis*, from the French coast of the English Channel. *Marine Biology*, 114 (3):407-414
91. Morgan JN, Berry MR, Graves RL. 1997. Effects of commonly used cooking practices on total mercury concentration in fish and their impact on exposure assessments. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 7(1):119-33.
92. Musaiger, A. O., Al-Jedah, J. H., & D'souza, R. (2008). Occurrence of contaminants in foods commonly consumed in Bahrain. *Food Control*, 19(9): 854-861.
93. Napoleão, P., Pinheiro, T., & Sousa Reis, C. (2005). Elemental characterization of tissues of *Octopus vulgaris* along the Portuguese coast. *Science of the total environment*, 345(1):41-49.
94. Newman C.A., and Unger A., (2003). *Fundamentals of Ecotoxicology*. 2ND Edition. Lewis publishers, CRC Press, USA.
95. Nordberg G.F., (1998). Metallothioneins: historical review and state of knowledge. *Talanta* 46: 243-254.
96. Nordberg G.F., (2009). Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238 (3):192-200.
97. Nordberg G.F., Fowler B.A., Nordberg M., and Friberg L., (2007). *Handbook on the Toxicology of Metals*, 3rd Edition. Amsterdam: Elsevier. p: 445-486.
98. Okada, M., T. Machino, and S. Kato., (1988). "Bone Softening," a Practical Way to Utilize Small Fish. *Marine fisheries reviews*, 50: 1-5.

99. Onianwa P.C., Lawal J.A., Ogunkeye A.A., and Orejimi B.M., (2000). Cadmium and Nickel composition of Nigerian foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 13(6): 961-969.
100. Oymak T., TokalIoglu S., Yilmaz V., Kartal S., and AydIn D., (2009). Determination of lead and cadmium in food samples by the coprecipitation method. *Food chemistry*, 113:1314-1317.
101. Özden, Ö., (2013). Monitoring Programme on Toxic Metal in Bluefish (*Pomatomus saltatrix*), Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and Sardine (*Sardina pilchardus*) from Istanbul, Turkey: Levels and Estimated Weekly Intake. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 90(5), 542-551.
102. Pacyna J.M., Pacyna E.G., and Aas W., (2009). Changes of emissions and atmospheric deposition of mercury, lead and cadmium. *Atmospheric Environment* 43:117-127.
103. Pan L., and Zhang H., (2006). Metallothionein, antioxidant enzymes and DNA strand breaks as biomarkers of Cd exposure in a marine crab, *Charybdis japonica*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 144:67-75.
104. Papetti P., and Rossi G., (2009). Heavy metals in the fishery products of low Lazio and the use of metallothionein as a biomarker of contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*, 159:589-598.
105. Pastor A., Hernandez F., Peris M.A., Beltran J., Sancho J.V., Castillo M.T., (1994). Levels of heavy metals in some marine organisms from the Western Mediterranean area (Spain). *Marine Pollution Bulletin*, 28:50-53.
106. Perelló G., Martí-Cid R., Llobet J.M., and Domingo J.L., (2008). Effects of various cooking processes on the concentrations of arsenic, cadmium, mercury, and lead in foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:11262-11269.
107. Pérez Cid B, Boia C, Pombo L, and Rebelo E, (2001). Determination of trace metals in fish species of the Ria de Aveiro (Portugal) by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 75:93-100.
108. Pierce, G.J., Stowasser, G., Hastie, L. C., & Bustamante, P., (2008). Geographic, seasonal and ontogenetic variation in cadmium and mercury concentrations in squid (Cephalopoda: Teuthoidea) from UK waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70(3):422-432.

109. Pourang, N., and Dennis, J. H., (2005). Distribution of trace elements in tissues of two shrimp species from the Persian Gulf and roles of metallothionein in their redistribution. *Environmental International*, 31(3):325-41.
110. Pourang, N., Dennis J. H., and Ghourchian H., (2005). Distribution of heavy metals in *Penaeus semisulcatus* from Persian gulf and possible role of metallothionein in their redistribution during storage. *Environmental Monitoring and Assessment*, 100:71–88.
111. Prafulla V., Francis L., Lakshmanan P.T., (2001). Concentrations of Trace Metals in the Squids *Loligo duvauceli* and *Doryteuthis sibogae* caught from the Southwest Coast of India. *Asian Fishery Science*, 14: 399-410.
112. Raimundo J., Costa P.M., Vale C., Costa M.H., and Moura I., (2010). Metallothioneins and trace elements in digestive gland, gills, kidney and gonads of *Octopus vulgaris*. *Comparative biochemistry and physiology, Part C*: 152:139-146.
113. Raimundo, J., Caetano., M., and Vale, C., (2004). Geographical variation and partition of metals in tissues of *Octopus vulgaris* along the Portuguese coast. *Science of the total environment*, 325(1):71-81.
114. Rainbow, P.S., (1997). Ecophysiology of trace metal uptake in crustaceans. *Estuarine, coastal and shelf science* 44:169-175.
115. Rasmussen R.S., Morrissey M.T., (2007). Effects of canning on total mercury, protein, lipid, and moisture content in troll-caught albacore tuna (*Thunnus alalunga*). *Food Chemistry*, 101:1130-1135.
116. Rodellar S., Fontcuberta M., Arques J.F., Calderon J., Ribas Barba L., and Serra-Majem L., (2010). Mercury and methylmercury intake estimation due to seafood products for the Catalanian population (Spain). *Food additives and contaminants*, 27(1): 29-35.
117. Roesijadi G., (1992). Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquatic toxicology*, 22:81-114.
118. Roesijadi, G., (1996.) Metallothionein and its role in toxic metal regulation. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 113(2):117–123.
119. Sanfilippo, M., Reale, A., Ziino, M., Romeo, V., Lembo, E., & Manganaro, A. (2011). Chemical Composition and Nutritional Value of *Engraulis encrasicolus*

- (Linnaeus, 1758) Caught by Driftnet “Menaide” along Sicilian Coast: a Natural Food for Mediterranean Dietary World, 3(1): 44-50.
120. Satarug S. and Moore M.R., (2004). Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. *Environmental Health Perspectives*, 112 (10): 1099-1103.
 121. Sato M., and Bremner I., (1993). Oxygen free radicals and metallothionein. *Free radical Biology and Medicine*, 14:325-337.
 122. Sato M., and Kondoh M., (2002). Recent studies on Metallothionein: Protection against toxicity of heavy metals and oxygen free radicals. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 196: 9-22.
 123. Schuwerack P.M.M., Lewis J.W., and Jones P, (2009). The dynamics of protein and metal metabolism in acclimated and Cd-exposed freshwater crabs (*Potamonautes warreni*). *Ecotoxicology and Environmental safety*, 72(4): 1220-1227.
 124. SCOOP Report of task 3.2.11: "Assessment of the dietary exposure to arsenic, cadmium, lead and mercury of the population of the EU Member States"; (cited 2004 Mar). Available from: http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/scoop_3-2-11_heavy_metals_report_en.pdf
 125. Seixas, S., and Pierce, G. (2005). Bioaccumulation of lead, calcium and strontium and their relationships in the octopus *Octopus vulgaris*. *Water, Air, and Soil Pollution*, 163(1-4):137-152.
 126. Seixas, S., Bustamante, P., and Pierce, G. J. (2005). Interannual patterns of variation in concentrations of trace elements in arms of *Octopus vulgaris*. *Chemosphere*, 59(8):1113-1124.
 127. Seixas, S., Pinheiro, T., Sousa Reis, C., (2002). Lead in octopus (*Octopus vulgaris*) in Portugal: A preliminary study. *Bulletin of Marine Science*, 72: 1091–1093.
 128. Shiber, J. G. (2011). Arsenic, cadmium, lead and mercury in canned sardines commercially available in eastern Kentucky, USA. *Marine pollution bulletin*, 62(1), 66-72.
 129. Sigel, H., (1986). *Metal Ions in Biological Systems: Concepts on Metal Ion Toxicity Vol 20*. Marcel Dekker, INC, New York.

130. Šimat V., and Bogdanović T., (2012). Seasonal changes in proximate composition of anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.) from the central Adriatic. *Acta Adriatica*, 53(1): 125 – 132
131. Sivaperumal, P., Sankar, T. V., and Viswanathan Nair, P. G. (2007). Heavy metal concentrations in fish, shellfish and fish products from internal markets of India vis-a-vis international standards. *Food chemistry*, 102(3):612-620.
132. Sloane, G., (2012). Mercury: the element of the ancients. Dartmouth Toxic Metal Research Program Publications. Available from: <http://www.dartmouth.edu/~toxmetal/mercury/history.html>
133. Smet H.D., Wachter B.D., Lobinski R., and Blust R., (2001). Dynamics of (Cd, Zn)-metallothioneins in gills, liver and kidney of common carp *Cyprinus carpio* during cadmium exposure. *Aquatic toxicology*, 52:269-281.
134. Soliman, Z. I., (2006). A study of heavy metals pollution in some aquatic organisms in Suez Canal in Port-Said Harbour. *Journal of Applied Sciences Research*, 2(10):657-663.
135. Steiner-Asiedu M., Julshamn K., and Lie Ø., (1991). Effect of local processing methods (cooking, frying and smoking) on three fish species from Ghana: Part I. Proximate composition, fatty acids, minerals, trace elements and vitamins. *Food Chemistry*, 40: 309-321.
136. Storelli M.M., (2008). Potential human health risks from metals (Hg, Cd, and Pb) and polychlorinated biphenyls (PCBs) via seafood consumption: Estimation of target hazard quotients (THQs) and toxic equivalents (TEQs). *Food and Chemical Toxicology*, 46:2782-2788.
137. Storelli M.M., Barone G., Cuttone G., Giungato D., and Garofalo R., (2010). Occurrence of toxic metals (Hg, Cd and Pb) in fresh and canned tuna: public health implications. *Food and Chemical Toxicology*, 48(11):3167–3170.
138. Storelli, M. M., and Barone, G. (2013). Toxic Metals (Hg, Pb, and Cd) in Commercially Important Demersal Fish from Mediterranean Sea: Contamination Levels and Dietary Exposure Assessment. *Journal of Food Science*, 78(2):T362-T366.
139. Storelli, M. M., and Marcotrigiano, G. O., (1999). Cadmium and total mercury in some cephalopods from the South Adriatic Sea (Italy). *Food Additives & Contaminants*, 16(6):261-265.

140. Storelli, M. M., and Marcotrigiano, G.O., (2004). Content of mercury and cadmium in fish (*Thunnus alalunga*) and cephalopods (*Eledone moschata*) from the south-eastern Mediterranean Sea. *Food Additives and contaminants*, 21(11):1051-1056.
141. Tahán J.E., Sanchez J.M., Granadillo V.A., Cubillan H.S., and Romero R.A., (1995). Concentration of Total Al, Cr, Cu, Fe, Hg, Na, Pb, and Zn in Commercial Canned Seafood Determined by Atomic Spectrometric Means after Mineralization by Microwave Heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43 (4):910–915.
142. Tarley C.R.T., Coltro K.T., Matsushita M., and de Souza N.E., (2001). Characteristic Levels of Some Heavy Metals from Brazilian Canned Sardines (*Sardinella brasiliensis*). *Journal of Food Composition and Analysis* Volume 14 (6):611-617.
143. Topcuoğlu S., Kirbaşoğlu Ç., and Güngör N., (2002). Heavy metals in organisms and sediments from Turkish Coast of the Black Sea, 1997-1998. *Environmental international*, 27:521-526.
144. Tsoumbaris, P., and Tsoukali–Papadopoulou, H., (1994b). Heavy metals in common foodstuff: Daily intake. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 53:67–70.
145. Türkmen A., Tepe Y., and Türkmen M., (2008). Metal Levels in Tissues of the European Anchovy, *Engraulis encrasicolus* L., 1758, and Picarel, *Spicara smaris* L., 1758, from Black, Marmara and Aegean Seas. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 80:521-525.
146. Türkmen A., Türkmen M., Tepe Y., Akyurt I., (2005). Heavy metals in three commercially valuable fish species from İskenderun Bay, Northern East Mediterranean Sea, Turkey. *Food chemistry*, 91(1):167-172.
147. Tüzen M., (2003). Determination of heavy metals in fish samples of the middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 80:119–123.
148. Tuzen M., (2009). Toxic and essential trace element contents in fish species from the Black Sea, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 47:1785-1790.
149. Tuzen, M., & Soylak, M. (2007). Determination of trace metals in canned fish marketed in Turkey. *Food Chemistry*, 101(4): 1378-1382.

150. Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Mendil, D., & Soylak, M. (2007). Trace metal content in nine species of fish from the Black and Aegean Seas, Turkey. *Food chemistry*, 104(2): 835-840.
151. United Nations Environmental Programme-UNEP, (1999). *Manual on the Biomarkers Recommended for the MED POL Biomonitoring Programme*. UNEP, Athens.
152. United Nations Environmental Program-UNEP., (2010). Final review of scientific information on cadmium (cited 2010 Dec). Available from: [http://www.unep.org/hazardoussubstances/Portals/9/Lead Cadmium/docs/Interim reviews/UNEP GC26 INF 11 Add 2 Final UNEP Cadmium review and appendix Dec 2010.pdf](http://www.unep.org/hazardoussubstances/Portals/9/Lead%20Cadmium/docs/Interim%20reviews/UNEP%20GC26%20INF%2011%20Add%202%20Final%20UNEP%20Cadmium%20review%20and%20appendix%20Dec%202010.pdf)
153. United States Department of Health and Human Services- Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry-ATSDR, (2007). *Toxicological Profile for Lead* (cited 2007 Aug). Available from: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=96&tid=22>
154. United States Environmental Protection Agency-EPA, (2006). *EPA's Roadmap for Mercury* (cited July 2006). Available from: <http://www.epa.gov/hg/roadmap.htm>
155. United States Environmental Protection Agency-EPA, (2012). *Mercury Health Effects* (cited 2012 Feb). Available from: <http://www.epa.gov/mercury/effects.htm>
156. United States Geological Survey-USGS, (2006): *Mineral commodity summaries 2006 (mercury)*. U.S. Geological Survey, Reston, U.S.A; cited (2006 Apr). Available from: <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/mercury/mercumcs07.pdf>
157. Usero J., Izquierdo C., Morillo J., and Gracia I., (2003). Heavy metals in fish (*Solea vulgaris*, *Anguilla anguilla* and *Liza aurata*) from salt marshes on the southern Atlantic coast of Spain. *Environment International*, 29(7):949-956.
158. UTAH State Department of Environmental Quality, (2013). *Mercury information*. Available from: <http://www.mercury.utah.gov/index.htm>

159. Vašák M., and Hasler D.W., (2000). Metallothioneins: new functional and structural insights. *Current Opinion in Chemical Biology*, 4:177-183.
160. Viarengo A., and Nott J.A., (1993). Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 104(3): 335-372
161. Villanueva, R., and Bustamante, P. (2006). Composition in essential and non-essential elements of early stages of cephalopods and dietary effects on the elemental profiles of *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture*, 261(1):225-240.
162. Voegborlo, R. B., El-Methnani, A. M., and Abedin, M. Z. (1999). Mercury, cadmium and lead content of canned tuna fish. *Food Chemistry*, 67(4):341-345.
163. Voutsas, D., and Samara C., (1998). Dietary intake of trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbons via vegetables grown in an industrial Greek area. *The Science of the Total Environment*, 218:203-216.
164. Wang W.X., and Fisher S., (1999). Effects of calcium and metabolic inhibitors on trace element uptake in two marine bivalves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 236:149-164
165. World Health Organization/United Nations Economic Commission for Europe-WHO/UNECE, (2007). Health risks of heavy metals from long-range transboundary air pollution. Joint WHO/Convention Task Force on the Health Aspects of Air Pollution. Available from: www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0007/78649/E91044.pdf
166. World Health Organization-WHO, (2004). "Guidelines for Drinking Water"; (cited 2004 Mar). Available from: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/en/
167. World Health Organization-WHO, (2007). Exposure to Mercury: A Major Public Health Concern. WHO Document Production Services, Geneva, Switzerland, pp: 1-4.
168. Zalups R.K. and Koropatnick J. (2000). Molecular biology and toxicology of metals. Taylor and Francis, London, p: 1-74.

169. Δάφτσης, Ε.Ι., (2007). Ανάπτυξη μεθόδων προσδιορισμού ιόντων μετάλλων και μορφών τους συμπλεγμένων με βιομόρια, με τεχνικές της ατομικής φασματομετρίας και χρήση χημειομετρικών μεθόδων βελτιστοποίησης. Διδακτορική Διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας.
170. Επιχειρησιακό Πρόγραμμα Αλιείας – Ε.Π.ΑΛ. 2007-2013, (2007). Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, Αθήνα. Διαθέσιμο από: <http://www.alieia.gr/4pp/docs/el.htm>
171. Nieboer E., and Richardson D.H.S., (1980). The replacement of the nondescript term “heavy metals” by a biologically and chemically significant classification of metal ions. Environmental Pollution Series B –Chemistry and Physics, 1:3–26.
172. Στράτης, Ιωάννης Α., (2004). Ενόργανη χημική ανάλυση ΙΙ / Ι. Α. Στράτης, Δ. Γ. Θεμελής, Γ. Α. Ζαχαριάδης, κ.ά., Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη.

Παράρτημα Ι. Πίνακες δεδομένων

Πίνακας 1. Δεδομένα δειγματοληψίας της σαρδέλας.

Περιοχή δειγματοληψίας	Ημερομηνία Δειγματοληψίας	Κωδικός δείγματος	Τεμάχια/kg	Μέσο μέγεθος (g)
Τυνησία	30.10.2008	26	60	17
Τυνησία	05.11.2008	38	60	17
Τυνησία	08.11.2008	41	66	15
Τυνησία	08.11.2008	42	66	15
Τυνησία	06.02.2009	50	37	27
Τυνησία	30.10.2008	25	60	17
Τυνησία	05.11.2008	37	60	17
Τυνησία	21.01.2009	47	36	28
Τυνησία	21.01.2009	48	36	28
Τυνησία	06.02.2009	49	37	27
Αδριατική	08.09.2008	1	34	29
Αδριατική	08.09.2008	2	34	29
Αδριατική	29.09.2008	5	36	28
Αδριατική	29.09.2008	6	37	27
Αδριατική	10.10.2008	7	37	27
Αδριατική	10.10.2008	8	37	27
Αδριατική	21.10.2008	9	36	28
Αδριατική	21.10.2008	10	36	28
Αδριατική	26.10.2008	11	42	24
Αδριατική	26.10.2008	12	42	24
Αδριατική	28.10.2008	13	40	25
Αδριατική	28.10.2008	14	40	25
Αδριατική	29.10.2008	19	37	27
Αδριατική	29.10.2008	20	37	27
Αδριατική	08.11.2008	39	37	27
Αδριατική	08.11.2008	40	37	27
Αδριατική	28.11.2008	43	36	28
Αδριατική	28.11.2008	44	35	29
Αδριατική	04.12.2008	45	35	29
Αδριατική	04.12.2008	46	35	29
Βόρειο Αιγαίο	10.09.2008	3	59	17
Βόρειο Αιγαίο	10.09.2008	4	59	17
Βόρειο Αιγαίο	28.10.2008	15	45	22
Βόρειο Αιγαίο	28.10.2008	16	45	22
Βόρειο Αιγαίο	28.10.2008	17	63	16
Βόρειο Αιγαίο	28.10.2008	18	64	16
Βόρειο Αιγαίο	29.10.2008	21	60	17
Βόρειο Αιγαίο	29.10.2008	22	60	17
Βόρειο Αιγαίο	29.10.2008	23	60	17
Βόρειο Αιγαίο	29.10.2008	24	60	17
Βόρειο Αιγαίο	01.11.2008	27	55	18
Βόρειο Αιγαίο	01.11.2008	28	55	18
Βόρειο Αιγαίο	01.11.2008	29	52	19
Βόρειο Αιγαίο	01.11.2008	30	52	19

Βόρειο Αιγαίο	01.11.2008	31	55	18
Βόρειο Αιγαίο	01.11.2008	32	55	18
Βόρειο Αιγαίο	01.11.2008	33	50	20
Βόρειο Αιγαίο	01.11.2008	34	50	20
Βόρειο Αιγαίο	01.11.2008	35	52	19
Βόρειο Αιγαίο	01.11.2008	36	52	19

Πίνακας 2. Δεδομένα δειγματοληψίας του γαύρου.

Περιοχή δειγματοληψίας	Ημερομηνία Δειγματοληψίας	Κωδικός δείγματος	Τεμάχια/kg	Μέσο μέγεθος (g)
Θερμαϊκός	24/12/2008	1	70	14
Θερμαϊκός	24/12/2008	2	70	14
Θερμαϊκός	24/3/2009	3	72	14
Θερμαϊκός	24/3/2009	4	72	14
Θερμαϊκός	15/4/2009	7	68	15
Θερμαϊκός	15/4/2009	8	68	15
Θερμαϊκός	21/4/2009	9	67	15
Θερμαϊκός	21/4/2009	10	68	15
Θερμαϊκός	21/4/2009	19	63	16
Θερμαϊκός	21/4/2009	20	63	16
Θερμαϊκός	20/5/2009	23	70	14
Θερμαϊκός	20/5/2009	24	70	14
Θερμαϊκός	25/4/2009	25	68	15
Θερμαϊκός	25/4/2009	26	68	15
Θερμαϊκός	30/4/2009	27	68	15
Θερμαϊκός	30/4/2009	28	68	15
Θερμαϊκός	1/7/2009	33	70	14
Θερμαϊκός	1/7/2009	34	70	14
Θερμαϊκός	18/7/2009	37	66	15
Θερμαϊκός	18/7/2009	38	66	15
Θερμαϊκός	18/7/2009	39	66	15
Θερμαϊκός	18/7/2009	40	66	15
Θερμαϊκός	19/7/2009	41	68	15
Θερμαϊκός	19/7/2009	42	68	15
Θερμαϊκός	22/7/2009	45	70	14
Θερμαϊκός	22/7/2009	46	70	14
Θερμαϊκός	30/8/2009	47	70	14
Θερμαϊκός	30/8/2009	48	70	14
Θερμαϊκός	2/5/2009	29	60	17
Θερμαϊκός	2/5/2009	30	60	17
Θρακικό πέλαγος	21/4/2009	17	60	17
Θρακικό πέλαγος	21/4/2009	18	60	17
Θρακικό πέλαγος	28/6/2009	31	68	15
Θρακικό πέλαγος	28/6/2009	32	68	15
Θρακικό πέλαγος	19/7/2009	35	66	15
Θρακικό πέλαγος	19/7/2009	36	66	15
Θρακικό πέλαγος	19/7/2009	43	70	14
Θρακικό πέλαγος	19/7/2009	44	70	14
Θρακικό πέλαγος	9/9/2009	49	65	15
Θρακικό πέλαγος	9/9/2009	50	65	15
Χαλκιδική	13/4/2009	5	63	16
Χαλκιδική	13/4/2009	6	63	16

Χαλκιδική	21/4/2009	11	62	16
Χαλκιδική	21/4/2009	12	62	16
Χαλκιδική	21/4/2009	13	60	17
Χαλκιδική	21/4/2009	14	60	17
Χαλκιδική	21/4/2009	15	72	14
Χαλκιδική	21/4/2009	16	72	14
Χαλκιδική	25/4/2009	21	66	15
Χαλκιδική	25/4/2009	22	66	15

Πίνακας.3. Δεδομένα δειγματοληψίας του καλαμαριού.

Ημερομηνία αλίευσης	Κωδικός δείγματος	Τεμάχια/kg	Μέσο μέγεθος (g)	Φύλο*
Πρώτη δειγματοληψία				
16.09.07	1	20	50	θηλυκό
16.09.07	2	19	53	θηλυκό
18.10.07	3	19	53	θηλυκό
28.10.07	4	16	63	αρσενικό
16.11.07	5	19	53	αρσενικό
20.11.07	6	15	67	αρσενικό
20.12.07	7	20	50	θηλυκό
20.12.07	8	18	56	θηλυκό
23.02.08	9	16	63	αρσενικό
23.02.08	10	19	53	αρσενικό
23.02.08	11	20	50	αρσενικό
23.02.08	12	16	63	αρσενικό
25.02.08	13	20	50	αρσενικό
25.02.08	14	20	50	αρσενικό
25.02.08	15	17	59	αρσενικό
14.03.08	16	16	63	θηλυκό
14.03.08	17	18	56	θηλυκό
14.03.08	18	18	56	αρσενικό
17.03.08	19	18	56	θηλυκό
17.03.08	20	22	45	αρσενικό
17.03.08	21	22	45	θηλυκό
18.03.08	22	19	53	αρσενικό
18.03.08	23	16	63	θηλυκό
19.03.08	24	22	45	θηλυκό
19.03.08	25	16	63	θηλυκό
21.03.08	26	21	48	θηλυκό
20.03.08	27	22	45	θηλυκό
20.03.08	28	21	48	θηλυκό
20.03.08	29	20	50	θηλυκό
21.03.08	30	19	53	θηλυκό
22.03.08	31	15	67	θηλυκό
21.03.08	32	15	67	αρσενικό
22.03.08	33	16	63	αρσενικό
22.03.08	34	20	50	θηλυκό
24.03.08	35	15	67	αρσενικό
24.03.08	36	16	63	αρσενικό
27.03.08	37	18	56	αρσενικό
27.03.08	38	17	59	αρσενικό
26.03.08	39	16	63	αρσενικό
27.03.08	40	19	53	αρσενικό

27.03.08	41	17	59	αρσενικό
02.04.08	42	22	45	θηλυκό
02.04.08	43	16	63	θηλυκό
03.04.08	44	15	67	θηλυκό
03.04.08	45	18	56	αρσενικό
04.04.08	46	16	63	αρσενικό
04.04.08	47	17	59	αρσενικό
07.04.08	48	16	63	αρσενικό
08.04.08	49	15	67	αρσενικό
09.04.08	50	20	50	αρσενικό
10.04.08	51	16	63	αρσενικό
11.04.08	52	16	63	αρσενικό
22.04.08	53	16	63	αρσενικό
23.04.08	54	17	59	θηλυκό
24.04.08	55	18	56	αρσενικό
05.05.08	56	20	50	αρσενικό
05.05.08	57	20	50	θηλυκό
06.05.08	58	22	45	αρσενικό
06.05.08	59	22	45	αρσενικό
07.05.08	60	19	53	αρσενικό
15.05.08	61	22	45	αρσενικό
15.05.08	62	22	45	αρσενικό
21.05.08	63	17	59	θηλυκό
02.07.08	64	21	48	θηλυκό
01.07.08	65	17	59	αρσενικό
01.07.08	66	20	50	αρσενικό
01.07.08	67	23	43	αρσενικό
01.07.08	68	23	43	αρσενικό
01.07.08	69	21	48	αρσενικό
01.07.08	70	20	50	αρσενικό
16.12.07	71	16	50	θηλυκό
16.12.07	72	18	53	θηλυκό
18.12.07	73	18	53	θηλυκό
28.12.07	74	18	63	αρσενικό
16.02.08	75	20	53	αρσενικό
20.02.08	76	21	67	αρσενικό
20.02.08	77	21	50	θηλυκό
20.02.08	78	22	56	θηλυκό
23.02.08	79	22	63	αρσενικό
23.02.08	80	22	53	αρσενικό
23.02.08	81	22	50	αρσενικό
23.02.08	82	22	63	αρσενικό
25.02.08	83	23	50	αρσενικό
25.02.08	84	23	50	αρσενικό
25.02.08	85	24	59	αρσενικό
14.03.08	86	24	63	θηλυκό
14.03.08	87	24	56	θηλυκό
14.03.08	88	25	56	αρσενικό
17.03.08	89	25	56	θηλυκό
17.03.08	90	25	45	αρσενικό
17.03.08	91	25	45	θηλυκό
18.03.08	92	25	53	αρσενικό

18.03.08	93	25	63	θηλυκό
19.03.08	94	25	45	θηλυκό
19.03.08	95	26	63	θηλυκό
21.03.08	96	26	48	θηλυκό
20.03.08	97	26	45	θηλυκό
20.03.08	98	26	48	θηλυκό
20.03.08	99	26	50	θηλυκό
21.03.08	100	26	53	θηλυκό
22.03.08	101	26	67	θηλυκό
21.03.08	102	27	67	αρσενικό
22.03.08	103	27	63	αρσενικό
22.03.08	104	27	50	θηλυκό
24.03.08	105	27	67	αρσενικό
24.03.08	106	27	63	αρσενικό
27.03.08	107	27	56	αρσενικό
27.03.08	108	27	59	αρσενικό
26.03.08	109	27	63	αρσενικό
27.03.08	110	27	53	αρσενικό
27.03.08	111	27	59	αρσενικό
02.04.08	112	27	45	θηλυκό
02.04.08	113	28	63	θηλυκό
03.04.08	114	28	67	θηλυκό
03.04.08	115	28	56	αρσενικό
04.04.08	116	28	63	αρσενικό
04.04.08	117	29	59	αρσενικό
07.04.08	118	30	63	αρσενικό
08.04.08	119	30	67	αρσενικό
09.04.08	120	30	50	αρσενικό
10.04.08	121	30	63	αρσενικό
11.04.08	122	31	63	αρσενικό
22.04.08	123	31	63	αρσενικό
23.04.08	124	31	59	θηλυκό
24.04.08	125	31	56	αρσενικό
05.05.08	126	32	50	αρσενικό
05.05.08	127	32	50	θηλυκό
06.05.08	128	32	45	αρσενικό
06.05.08	129	32	45	αρσενικό
07.05.08	130	32	53	αρσενικό
15.05.08	131	32	45	αρσενικό
15.05.08	132	32	45	αρσενικό
21.05.08	133	33	59	θηλυκό
02.07.08	134	33	48	θηλυκό
01.07.08	135	33	59	αρσενικό
01.07.08	136	34	50	αρσενικό
01.07.08	137	34	43	αρσενικό
01.07.08	138	34	43	αρσενικό
01.07.08	139	35	48	αρσενικό
01.07.08	140	35	50	αρσενικό
Δεύτερη δειγματοληψία				
23.02.09	1	25	40	αρσενικό
23.02.09	2	26	38	αρσενικό

24.02.09	3	35	29	αρσενικό
24.02.09	4	32	31	θηλυκό
24.02.09	5	32	31	αρσενικό
24.02.09	6	24	42	αρσενικό
24.02.09	7	24	42	θηλυκό
24.02.09	8	23	43	αρσενικό
24.02.09	9	22	45	αρσενικό
24.02.09	10	25	40	αρσενικό
25.02.09	11	28	36	αρσενικό
25.02.09	12	30	33	αρσενικό
25.02.09	13	25	40	θηλυκό
25.02.09	14	28	36	θηλυκό
25.02.09	15	22	45	αρσενικό
25.02.09	16	33	30	αρσενικό
10.03.09	17	31	32	θηλυκό
10.03.09	18	30	33	θηλυκό
10.03.09	19	27	37	αρσενικό
10.03.09	20	30	33	θηλυκό
11.03.09	21	28	36	αρσενικό
11.03.09	22	25	40	αρσενικό
11.03.09	23	23	43	αρσενικό
11.03.09	24	26	38	θηλυκό
11.03.09	25	27	37	θηλυκό
11.03.09	26	30	33	θηλυκό
12.03.09	27	33	30	αρσενικό
12.03.09	28	28	36	θηλυκό
12.03.09	29	28	36	αρσενικό
12.03.09	30	25	40	αρσενικό
12.03.09	31	25	40	αρσενικό
12.03.09	32	30	33	θηλυκό
12.03.09	33	33	30	θηλυκό
12.03.09	34	33	30	θηλυκό
13.03.09	35	28	36	αρσενικό
13.03.09	36	26	38	θηλυκό
13.03.09	37	25	40	θηλυκό
13.03.09	38	26	38	αρσενικό
14 03 09	39	28	36	αρσενικό
14 03 09	40	30	33	αρσενικό
15 03 09	41	26	38	θηλυκό
15 03 09	42	26	38	θηλυκό
19 03 09	43	23	43	θηλυκό
19 03 09	44	24	42	αρσενικό
26 03 09	45	32	31	θηλυκό
26 03 09	46	30	33	αρσενικό
02 04 09	47	28	36	αρσενικό
02 04 09	48	30	33	αρσενικό
10 04 09	49	28	36	θηλυκό
10 04 09	50	26	38	θηλυκό

Παράρτημα ΙΙ. Ερευνητικές Δημοσιεύσεις των αποτελεσμάτων

1. Galitsopoulou, A., Georgantelis, D., & Kontominas, M. G. (2009). Cadmium content in fresh and canned squid (*Loligo opalescens*) from the Pacific coastal waters of California (USA). *Food Additives and Contaminants: Part B*, 2(1), 38-43.
2. Galitsopoulou, A., Georgantelis, D., & Kontominas, M. (2012). The influence of industrial-scale canning on cadmium and lead levels in sardines and anchovies from commercial fishing centers of the Mediterranean Sea. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 5(1), 75-81.
3. Galitsopoulou, A., Georgantelis, D., & Kontominas, M. G. (2013). Effect of thermal processing and canning on cadmium and lead levels in California market squid: the role of metallothioneins. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30(11), 1900-1908.