



ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών:

«ΧΗΜΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ»

Διπλωματική Εργασία

**Μέθοδοι Προσδιορισμού Υπερ- και Πολύ-Φθοροαλκυλιωμένων Ουσιών
(PFAS) σε Γαλακτοκομικά Προϊόντα.**

Μότσο Ελευθερία

Επιβλέπων Καθηγητής : κ. Κωνσταντίνος Τσιαφούλης

Πάτρα, «Ιούλιος» «2026»

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία του φοιτητή/της φοιτήτριας («συγγραφέας/δημιουργός») που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίας στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του συγγραφέα/δημιουργού. Ο συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.

Μέθοδοι Προσδιορισμού Υπερ- και Πολύ-Φθοροαλκυλιωμένων Ουσιών (PFAS) σε Γαλακτοκομικά Προϊόντα.

Επιτροπή Επίβλεψης Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπων Καθηγητής

Κωνσταντίνος Τσιαφούλης

Καθηγητής

Τμήμα Χημείας

Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Συν-Επιβλέπων Καθηγητής:

Ευάγγελος Μπακέας

Καθηγητής Περιβαλλοντικής Ανάλυσης

Τμήμα Χημείας

Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Πάτρα, «Ιούλιος» «2026»

Ευχαριστίες αρχικά στον καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Τσιαφούλη για τη συνεργασία.

Ευχαριστίες σε αυτούς που με στήριξαν την προσπάθεια αυτή.

Περίληψη

Οι υπερ- και πολυφθοροαλκυλικές ουσίες ή αλλιώς PFAS , είναι μια μεγάλη ομάδα τεχνητών χημικών ουσιών , τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως σε βιομηχανίες και σε καθημερινά προϊόντα , εξαιτίας των ειδικών φυσικών και χημικών ιδιοτήτων τους . Οι ισχυροί δεσμοί μεταξύ άνθρακα και φθορίου , καθιστούν αυτές τις ενώσεις πολύ σταθερές . Η σταθερότητα αυτή συμβάλλει στην παραμονή τους στο περιβάλλον για μεγάλο χρονικό διάστημα , με αποτέλεσμα να μην διασπώνται εύκολα και οδηγώντας στην βιοσυσσωρευση τους στο περιβάλλον όπως νερό , έδαφος , αέρας και σε ζωντανούς οργανισμούς . Η ικανότητά τους να συσσωρεύονται και να μεταβάλλονται μέσω της τροφικής αλυσίδας , έχει αποτελέσει μεγάλη ανησυχία στην επιστημονική κοινότητα παγκοσμίως . Η συγκεκριμένη διπλωματική εργασία εξετάζει την έρευνα σχετικά με τα PFAS σε γαλακτοκομικά προϊόντα , με ιδιαίτερη έμφαση το γάλα , καθώς το γιαούρτι και το τυρί.

Το πρώτο μέρος αναφέρεται στη χημική δομή των ενώσεων αυτών , που τα καθιστά τόσο ανθεκτικά , καθώς και στα φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά τους και πως μεταβαίνουν στην τροφική αλυσίδα .Ιδιαίτερη έμφαση , δίνεται στις πηγές περιβαλλοντικής ρύπανσης , καθώς και τον τρόπο που μεταβαίνουν από το έδαφος , το νερό και τελικά καταλήγουν σε γαλακτοκομικά προϊόντα , τα οποία προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση . Επίσης ,τονίζεται η ανάγκη παρακολούθησης αυτών των ενώσεων για τη διασφάλιση της δημόσιας υγείας .

Στη συνέχεια γίνεται αναφορά για τους μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο των PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα . Εξηγούνται οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την προετοιμασία δειγμάτων , τα βήματα για την εκχύλιση και τον κατάλληλο καθαρισμό των ουσιών , εξαιτίας της περίπλοκης μήτρας (matrix effects) λόγω λιπιδίων , πρωτεϊνών και δυσκολεύουν την ανάλυση .Παρουσιάζονται οι βασικές αρχές της υγρής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με τη διαδοχική φασματομετρία μάζας (LC-MS/MS) , η οποία συμβάλλει σημαντικά για την ανίχνευση των PFAS σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Ταυτόχρονα, εξετάζονται νεότερες προσεγγίσεις για τον συνολικό προσδιορισμό του οργανικού φθορίου, όπως το Εκχυλιζόμενο Οργανικό Φθόριο (EOF) και η Χρωματογραφία Ιόντων Καύσης (CIC), οι οποίες επιτρέπουν την ποσοτικοποίηση τόσο γνωστών όσο και άγνωστων φθοριωμένων ενώσεων.

Αυτή η εργασία παρέχει μια επισκόπηση των όσων είναι σήμερα γνωστά σχετικά με τα PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα , καθώς και τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση τους . Επισημαίνει επίσης , τις κύριες δυσκολίες που αντιμετωπίζουν οι ερευνητές στην προσπάθεια να εντοπίσουν και να παρακολουθήσουν αυτές τις χημικές ουσίες που παραμένουν στο περιβάλλον .

Λέξεις Κλειδιά : PFAS , LC-MS/MS , EOF , CIC, Γαλακτοκομικά Προϊόντα , Γαλακτική Μήτρα

Abstract

Per- and polyfluoroalkyl substances, or PFAS, are a large group of synthetic chemicals that are widely used in industry and in everyday products due to their unique physical and chemical properties. The strong bonds between carbon and fluorine make these compounds very stable. This stability contributes to their persistence in the environment for a long time, meaning they do not break down easily and leading to their bioaccumulation in the environment such as in water, soil, air, and living organisms. Their ability to accumulate and transform through the food chain has been a major concern for the scientific community worldwide. This thesis examines research on PFAS in dairy products, with a particular focus on milk, as well as yogurt and cheese.

The first part discusses the chemical structure of these compounds, which makes them so persistent, as well as their physical and chemical properties and how they enter the food chain. Particular emphasis is placed on sources of environmental pollution, as well as how these compounds move from soil and water and ultimately end up in dairy products intended for human consumption. It also highlights the need to monitor these compounds to ensure public health.

The paper then discusses the methods used to test for PFAS in dairy products. The methods used for sample preparation are explained, along with the steps for extraction and proper purification of the substances, due to the complex matrix (matrix effects) caused by lipids and proteins, which complicate the analysis. The basic principles of liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) are presented, which significantly contributes to the detection of PFAS at very low levels. At the same time, newer approaches for the total determination of organic fluorine are examined, such as Extractable Organic Fluorine (EOF) and Combustion Ion Chromatography (CIC), which allow for the quantification of both known and unknown fluorinated compounds.

This paper provides an overview of what is currently known about PFAS in dairy products, as well as the techniques used for their detection. It also highlights the main challenges researchers face in their efforts to identify and monitor these chemicals that persist in the environment.

Key- Words : PFAS , LC-MS/MS , EOF,CIC, Dairy Products , Matrix Effects

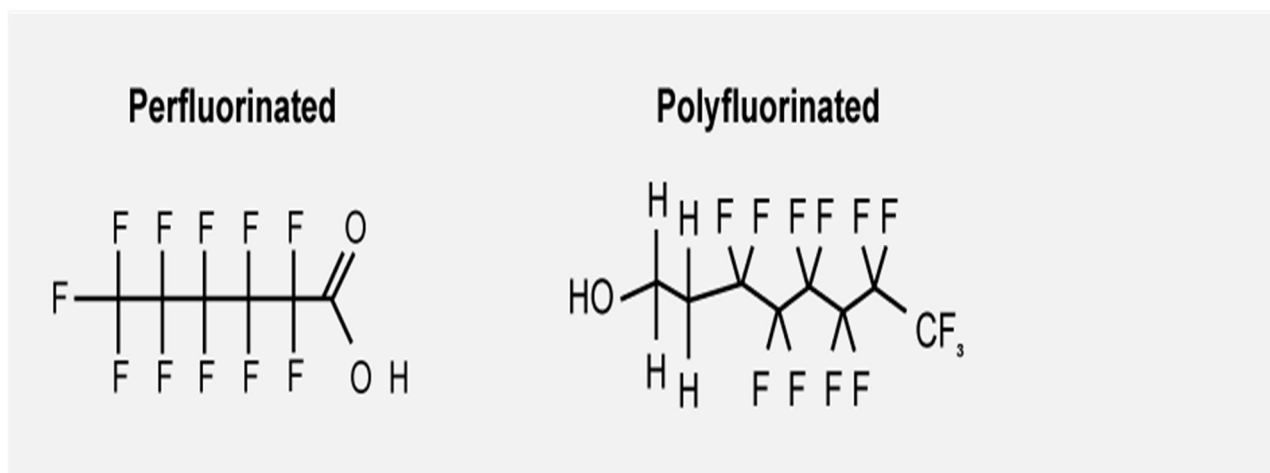
Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή	1
2. Χημεία και Ιδιότητες των PFAS	8
2.1 Χημική δομή και κατηγορίες των PFAS	8
2.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες των PFAS	14
2.3 Περιβαλλοντική επιμονή και βιοσυσσωρευση των PFAS	17
3. Πηγές PFAS και Είσοδος στην Τροφική Αλυσίδα	21
4. PFAS στα Γαλακτοκομικά Προϊόντα	24
4.1 Παρουσία PFAS στα τρόφιμα	24
4.2 PFAS στο γάλα	26
4.3 PFAS σε τυρί και γιαούρτι	29
5. Τοξικολογία και Κανονιστικό Πλαίσιο	31
6. Αναλυτικές Μέθοδοι Προσδιορισμού PFAS στα Γαλακτοκομικά Προϊόντα	34
6.1 Γενικές αρχές ανάλυσης PFAS	34
6.2 Προετοιμασία Δειγμάτων (Sample Preparation)	36
6.2.1 Εκχύλιση (Extraction Techniques)	36
..... Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
6.2.2 Καθαρισμός δείγματος (Cleanup)	39
6.2.3 Ιδιαιτερότητες γαλακτοκομικών matrix	40
6.3 Target Analysis	41
6.3.1 LC-MS/MS (Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry)	41
6.3.2 Πλεονεκτήματα	42
6.3.3 Περιορισμοί	43
6.3.4 Internal standards	44
6.3.5 Στοχευμένη Αναάλυση (Target Analysis)	45
6.3.6 Non-target και Suspect Screening	45
6.4 Φαινόμενα Μήτρας κατά τον Ιονισμό Electrospray	47
6.4.1 Η Επίδραση των Πρωτεϊνών (Καζεΐνη και Ορός Γάλακτος)	48
6.4.2 Η Επίδραση του Λιπιδικού Υποστρώματος (Λίπος Γάλακτος)	49
6.4.3 Στρατηγικές Αντιμετώπισης των Matrix Effects	50
6.5 Προσδιορισμός Συνολικού Φθορίου	51
6.5.1 Extractable Organic Fluorine (EOF)	51

6.5.2 Combustion Ion Chromatography (CIC)	52
6.6 Σύγκριση Μεθόδων.....	55
6.7.1 Εκλεκτικότητα και Εξειδίκευση.....	56
6.7.2 Γραμμικότητα και Δυναμική Περιοχή (Range).....	56
6.7.3 Πιστότητα / Ανάκτηση	57
6.7.4 Ακρίβεια	59
6.7.5 Όρια Ανίχνευσης και Ποσοτικοποίησης	60
6.7.6 Αξιολόγηση των Φαινομένων Μήτρας (Matrix Effects) ως Παράμετρος Επικύρωσης	61
6.8 Διασφάλιση και Έλεγχος Ποιότητας.....	62
7. Προκλήσεις και Περιορισμοί.....	63
8. Συζήτηση.....	64
9. Συμπεράσματα	68
Βιβλιογραφία	71

1. Εισαγωγή

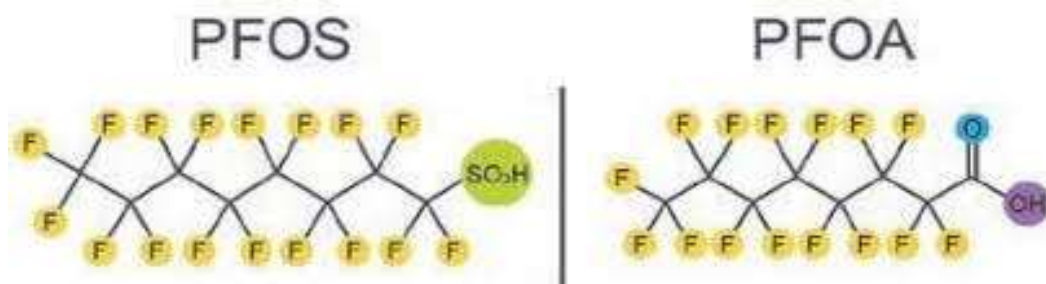
Οι περιβαλλοντικοί ρύποι αποτελούν ένα από τα σημαντικότερα ζητήματα που απασχολούν τη σύγχρονη επιστημονική κοινότητα, καθώς η συνεχής βιομηχανική ανάπτυξη και η εκτεταμένη χρήση συνθετικών χημικών ουσιών έχουν οδηγήσει σε αυξημένη επιβάρυνση του περιβάλλοντος και της δημόσιας υγείας. Η παρουσία χημικών ρύπων στο νερό, στο έδαφος, στην ατμόσφαιρα και τελικά στα τρόφιμα συνδέεται άμεσα με την ανθρώπινη δραστηριότητα και ιδιαίτερα με τη βιομηχανική παραγωγή, τη γεωργία, τη χρήση καταναλωτικών προϊόντων και τη διαχείριση αποβλήτων. Πολλές από αυτές τις ενώσεις χαρακτηρίζονται από υψηλή σταθερότητα, μεγάλη διάρκεια παραμονής στο περιβάλλον και ικανότητα βιοσυσώρευσης στους οργανισμούς. Ως αποτέλεσμα, η ανθρώπινη έκθεση σε περιβαλλοντικούς ρύπους αποτελεί σήμερα ένα από τα σημαντικότερα πεδία μελέτης της περιβαλλοντικής χημείας, της τοξικολογίας και της ασφάλειας τροφίμων.



Σχήμα 1 : Δομή PFAS . Perfluorinated (υπερφθοριωμένες ουσίες) , όπου όλα τα άτομα υδρογόνου έχουν αντικατασταθεί από φθόριο (F) . Polyfluorinated (πολυφθοριωμένες ουσίες) , όπου η αλυσίδα είναι μερικώς φθοριωμένη , υπάρχουν ακόμα κάποια άτομα υδρογόνου . (Σύμφωνα με τον ΟΟΣΑ 2021)

Μεταξύ των σημαντικότερων αναδυόμενων περιβαλλοντικών ρύπων συγκαταλέγονται οι υπερφθοριωμένες και πολυφθοριωμένες αλκυλιωμένες ενώσεις, γνωστές διεθνώς ως PFAS

(Per- and Polyfluoroalkyl Substances). Οι PFAS αποτελούν μία μεγάλη ομάδα συνθετικών οργανικών ενώσεων, οι οποίες περιλαμβάνουν χιλιάδες διαφορετικές χημικές ουσίες. Κοινό χαρακτηριστικό όλων αυτών των ενώσεων είναι η παρουσία δεσμών άνθρακα-φθορίου (C-F), οι οποίοι θεωρούνται από τους ισχυρότερους δεσμούς στην οργανική χημεία. Η υψηλή ισχύς αυτού του δεσμού προσδίδει στις ενώσεις αυτές ιδιαίτερη χημική και θερμική σταθερότητα, καθώς και αντοχή στην αποδόμηση μέσω φυσικών, χημικών και βιολογικών διεργασιών (Glüge et al., 2020). Εξαιτίας αυτής της εξαιρετικής σταθερότητας, οι PFAS μπορούν να παραμένουν στο περιβάλλον για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα χωρίς να αποικοδομούνται εύκολα, γι' αυτό και συχνά χαρακτηρίζονται ως «forever chemicals». Οι PFAS περιλαμβάνουν πολλές διαφορετικές κατηγορίες ενώσεων, όπως τα υπερφθοροαλκυλικά καρβοξυλικά οξέα (PFCAs), τα υπερφθοροαλκυλικά σουλφονικά οξέα (PFSA) και διάφορες πολυφθοριωμένες πρόδρομες ενώσεις. Οι πιο γνωστές και περισσότερο μελετημένες ενώσεις είναι το υπερφθοροοκτανοϊκό οξύ (PFOA) και το υπερφθοροοκτανοσουλφονικό οξύ (PFOS), τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε πολλές βιομηχανικές εφαρμογές και έχουν ανιχνευθεί παγκοσμίως στο περιβάλλον και στους οργανισμούς.



Σχήμα 2α: Στα δεξιά η χημική δομή του υπερφθοροοκτανοϊκού οξέος (PFOA). Διακρίνεται η πλήρως φθοριωμένη ανθρακική αλυσίδα (υδρόφοβο τμήμα) και η καρβοξυλική ομάδα (-COOH) στο άκρο της, η οποία αποτελεί την υδρόφιλη λειτουργική ομάδα της ένωσης. (Ian Ross et al., 2016)

Σχήμα 2β : Στα αριστερά η χημική δομή του υπερφθοροοκτανοσουλφονικού οξέος (PFOS). Η ένωση αποτελείται από μια υπερφθοριωμένη αλυσίδα οκτώ ανθράκων που καταλήγει σε μια σουλφονική ομάδα (-SO₃H), η οποία καθορίζει την διαλυτότητα και τη συμπεριφορά στο περιβάλλον. (Ian Ross et al., 2016)

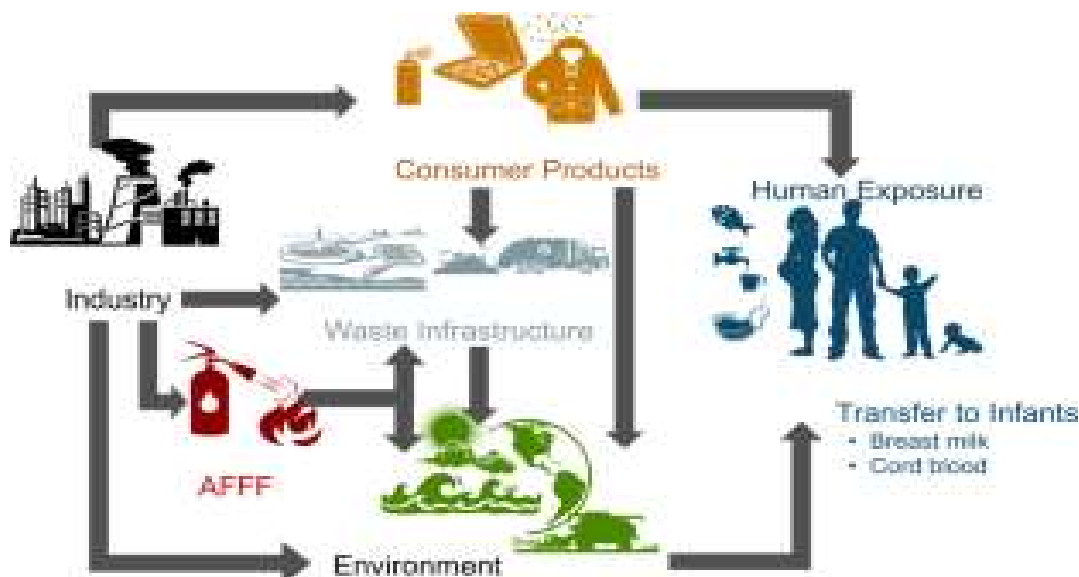
Η μεγάλη χημική ποικιλία των PFAS, σε συνδυασμό με τις διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητές τους, καθιστούν δύσκολη τόσο την περιβαλλοντική παρακολούθηση όσο και την

αξιολόγηση της τοξικότητάς τους (EFSA 2020) . Η ανάπτυξη και η ευρεία χρήση των PFAS ξεκίνησε τη δεκαετία του 1940, όταν οι ενώσεις αυτές άρχισαν να χρησιμοποιούνται σε πολλές βιομηχανικές και καταναλωτικές εφαρμογές. Οι ιδιαίτερες ιδιότητές τους, όπως η ανθεκτικότητα στη θερμότητα, η υδροφοβικότητα και η λιποφοβικότητα, τις κατέστησαν ιδανικές για χρήση σε αντικολλητικά σκεύη, αδιάβροχα υφάσματα, χαρτί συσκευασίας τροφίμων, πυροσβεστικούς αφρούς, ηλεκτρονικά προϊόντα, καλλυντικά και βιομηχανικά λιπαντικά (Buck et al., 2011). Η μαζική παραγωγή και χρήση των PFAS για πολλές δεκαετίες είχε ως αποτέλεσμα την εκτεταμένη απελευθέρωσή τους στο περιβάλλον. Σήμερα, οι ενώσεις αυτές έχουν ανιχνευθεί σε ποτάμια, λίμνες, υπόγεια ύδατα, θαλάσσια οικοσυστήματα, ατμοσφαιρικά σωματίδια, καθώς και σε ζώα και ανθρώπους ακόμη και σε απομακρυσμένες περιοχές του πλανήτη.(Sunderland et al., 2019)

Η παγκόσμια εξάπλωση των PFAS και η μεγάλη περιβαλλοντική εμμονή τους , έχουν προκαλέσει σημαντική ανησυχία σχετικά με τις πιθανές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Σχετικές μελέτες έχουν δείξει ότι πολλές PFAS ενώσεις εμφανίζουν βιοσυσσωρευση στους οργανισμούς και μπορούν να παραμένουν στο ανθρώπινο σώμα για αρκετά χρόνια. Οι ενώσεις αυτές έχουν συσχετιστεί με διαταραχές του ανοσοποιητικού συστήματος, ενδοκρινικές διαταραχές, ηπατοτοξικότητα, αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης, μειωμένη αποτελεσματικότητα των εμβολίων, προβλήματα γονιμότητας και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ορισμένων μορφών καρκίνου (Sunderland et al., 2019). Συνάμα, ιδιαίτερη ανησυχία προκαλεί η έκθεση ευπαθών ομάδων του πληθυσμού, όπως τα παιδιά και οι έγκυες γυναίκες (Ehrlich et al.,2023) , καθώς οι PFAS μπορούν να μεταφερθούν μέσω του πλακούντα (prenatal exposure) και του μητρικού γάλακτος (postnatal exposure) (Mamsen et al.,2019 ; Fromme et al.,2010)

Επιπροσθέτως, είναι σημαντικό να σημειωθεί πως η παρουσία PFAS στο περιβάλλον οδηγεί αναπόφευκτα και στη μεταφορά τους στην τροφική αλυσίδα. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να εισέλθουν στα τρόφιμα μέσω πολλών διαφορετικών οδών, όπως η ρύπανση των υδάτων και του εδάφους, η χρήση μολυσμένων ζωοτροφών, η επαφή με συσκευασίες τροφίμων ή ακόμη και η χρήση μολυσμένου εξοπλισμού κατά την παραγωγή τροφίμων. Η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) έχει αναγνωρίσει ότι η διατροφή αποτελεί μία από τις κυριότερες οδούς ανθρώπινης έκθεσης στα PFAS, ιδιαίτερα μέσω τροφίμων ζωικής προέλευσης (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, 2020). Έτσι, η ανίχνευση και ο

ποσοτικός προσδιορισμός των PFAS στα τρόφιμα αποτελούν σήμερα αντικείμενο εντατικής επιστημονικής έρευνας.



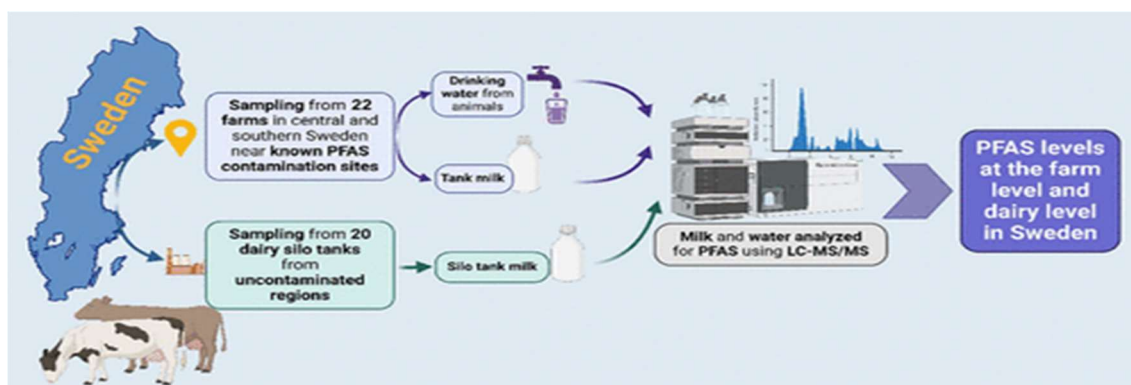
Σχήμα 3 : Σχηματική αναπαράσταση των κύριων πηγών εκπομπής των PFAS στο περιβάλλον , οδός μεταφοράς τους στον υδρόφορο ορίζοντα και το έδαφος , καθώς και έκθεσης του ανθρώπινου οργανισμού μέσω τροφικής αλυσίδας.

(Elsie M.Sunderland et al., 2019) Sunderland, E.M., Hu, X.C., Dassuncao, C. *et al.* A review of the pathways of human exposure to poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) and present understanding of health effects. *J Expo Sci Environ Epidemiol* **29**, 131–147 (2019).

<https://doi.org/10.1038/s41370-018-0094-1>

Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρουσία PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα, καθώς τα προϊόντα αυτά αποτελούν βασικό τμήμα της καθημερινής ανθρώπινης διατροφής. Το γάλα και τα προϊόντα του, όπως το τυρί και το γιαούρτι, καταναλώνονται ευρέως από όλες τις ηλικιακές ομάδες και ιδιαίτερα από παιδιά, γεγονός που αυξάνει τη σημασία της παρακολούθησης πιθανών επιμολύνσεων. Οι PFAS μπορούν να μεταφερθούν στα γαλακτοκομικά προϊόντα μέσω μολυσμένων ζωοτροφών και νερού που καταναλώνουν τα παραγωγικά ζώα. Επιπλέον, οι ενώσεις αυτές μπορούν να συσσωρευτούν στους ιστούς των ζώων και να μεταφερθούν στο γάλα μέσω βιολογικών μηχανισμών. Το γάλα αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό προϊόν στο πλαίσιο της μελέτης των PFAS, καθώς μπορεί να λειτουργήσει ως δείκτης περιβαλλοντικής

επιβάρυνσης αλλά και ως πιθανή πηγή διατροφικής έκθεσης του ανθρώπου. Η παρουσία PFAS στο γάλα έχει μελετηθεί σε πολλές χώρες, με αποτελέσματα που δείχνουν ότι οι συγκεντρώσεις επηρεάζονται από την εγγύτητα σε βιομηχανικές περιοχές, τη χρήση μολυσμένου νερού και τις συνθήκες εκτροφής των ζώων. Οι Barbarossa et al. (2014) κατέγραψαν την παρουσία διαφόρων PFAS ενώσεων σε γάλα που παράγεται στη βόρεια Ιταλία, μία μελέτη από το Πανεπιστήμιο της Μπολόνιας. Σύμφωνα με την μελέτη αυτή εξετάστηκαν 14 διαφορετικά PFAS για να εντοπίσουν πως κατανέμονται οι ενώσεις αυτές στο γάλα αλλά στα κλάσματα περιεκτικότητας σε πλήρες, αποβουτηρωμένο και στην κρέμα γάλακτος. Τα αποτελέσματα έδειξαν σε όλα τα δείγματα τουλάχιστον από μία ένωση PFAS, με το υπερφθοροβουτανοϊκό οξύ PFBA να βρίσκεται σε όλα ακολουθούμενο από το υπερφθοροοκτανοσουλφονικό (PFOS) στην κρέμα γάλακτος και το υπερφθοροοκτανοϊκό οξύ (PFOA). Ενώ οι Glynn et al. (2025) διαπίστωσαν αυξημένες συγκεντρώσεις PFAS (PFOS, PFOA, PFNA) σε γάλα αγελάδων σε περιοχές της Σουηδίας, για την ακρίβεια σε 22 γαλακτοπαραγωγικές μονάδες ακτίνας λιγότερης από 10χλμ, καθώς και κοντά σε γνωστές πηγές περιβαλλοντικής ρύπανσης. Τα αποτελέσματα αυτών των ερευνών αναδεικνύουν τη σημασία της συνεχούς παρακολούθησης των γαλακτοκομικών προϊόντων, ιδιαίτερα σε περιοχές με αυξημένη περιβαλλοντική επιβάρυνση.



Σχήμα 4 :Σχηματική απεικόνιση της έρευνας των Glynn το 2025 στην Σουηδία. (Διαθέσιμο με άδεια CC BY4.0)

Εκτός από το γάλα, ενδιαφέρον παρουσιάζει και η παρουσία PFAS σε άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως το τυρί και το γιαούρτι. Η διαφορετική περιεκτικότητα αυτών των προϊόντων σε λίπος και πρωτεΐνες μπορεί να επηρεάσει τη συμπεριφορά και τη συγκέντρωση των PFAS.

Ορισμένες PFAS ενώσεις εμφανίζουν μεγαλύτερη συγγένεια με τις πρωτεΐνες παρά με τα λιπίδια, γεγονός που επηρεάζει την κατανομή τους στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Οι Sznajder-Katarzyńska et al. (2019) ανέφεραν την παρουσία διαφόρων PFAS ενώσεων σε γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα, επιβεβαιώνοντας ότι τα προϊόντα αυτά μπορούν να συμβάλλουν στη συνολική ανθρώπινη έκθεση. Ακόμη, πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι ορισμένες PFAS μπορούν να συνδέονται με πρωτεΐνες του γάλακτος, όπως η β-λακτογλοβουλίνη, γεγονός που ενισχύει την παραμονή τους στη γαλακτική μήτρα και επηρεάζει τη συμπεριφορά τους κατά την ανάλυση (Curci et al., 2025). Η ανάλυση PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα παρουσιάζει σημαντικές προκλήσεις λόγω της πολυπλοκότητας των συγκεκριμένων δειγμάτων. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, λίπη και άλλα οργανικά συστατικά που μπορούν να παρεμποδίσουν από τη μήτρα του δείγματος κατά την αναλυτική διαδικασία. Οι παρεμποδίσεις αυτές ενδέχεται να επηρεάσουν τόσο την εκχύλιση όσο και την ανίχνευση των PFAS, οδηγώντας σε μειωμένη ακρίβεια και αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Για τον λόγο αυτό, η προετοιμασία του δείγματος αποτελεί ιδιαίτερα κρίσιμο στάδιο στην ανάλυση των PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα (Trufelli et al., 2015; Abafe et al., 2021)

Η ανάγκη ανίχνευσης εξαιρετικά χαμηλών συγκεντρώσεων PFAS, συνήθως σε επίπεδα ng/L ή ng/kg, έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη προηγμένων αναλυτικών τεχνικών υψηλής ευαισθησίας και επιλεκτικότητας. Η υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας σε σειρά (LC-MS/MS) αποτελεί σήμερα τη σημαντικότερη και πιο διαδεδομένη τεχνική για τον προσδιορισμό PFAS σε τρόφιμα και ιδιαίτερα σε γαλακτοκομικά προϊόντα. Η τεχνική αυτή προσφέρει υψηλή ευαισθησία, μεγάλη επιλεκτικότητα και δυνατότητα ταυτόχρονου προσδιορισμού πολλών διαφορετικών ενώσεων σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Οι Berendsen et al. (2020) ανέπτυξαν μεθόδους UHPLC-MS/MS για την ανάλυση PFAS σε γάλα και αυγά, αποδεικνύοντας ότι η τεχνική αυτή μπορεί να προσφέρει αξιόπιστα αποτελέσματα ακόμη και σε σύνθετες τροφικές μήτρες.

Μαζί με τις στοχευμένες τεχνικές ανάλυσης, τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί και μέθοδοι συνολικού προσδιορισμού οργανικού φθορίου, όπως το Extractable Organic Fluorine (EOF) και η Combustion Ion Chromatography (CIC). Οι μέθοδοι αυτές επιτρέπουν την εκτίμηση της συνολικής ποσότητας οργανικού φθορίου που υπάρχει σε ένα δείγμα, συμπεριλαμβάνοντας τόσο γνωστές όσο και άγνωστες PFAS ενώσεις. Η ανάπτυξη τέτοιων

τεχνικών θεωρείται ιδιαίτερα σημαντική, καθώς η βιομηχανία στρέφεται συνεχώς σε νέες PFAS ενώσεις, πολλές από τις οποίες δεν είναι ακόμη πλήρως ταυτοποιημένες ή διαθέσιμες ως πρότυπα αναφοράς. Ένα επιπλέον σημαντικό ζήτημα που σχετίζεται με την ανάλυση PFAS είναι η πιθανότητα επιμόλυνσης κατά τη διάρκεια της εργαστηριακής διαδικασίας. Οι PFAS χρησιμοποιούνται ευρέως σε εργαστηριακά υλικά και εξοπλισμό, όπως σωληνάκια, φίλτρα και υλικά που περιέχουν PTFE (polytetrafluoroethylene). Λόγω αυτού, ακόμη και μικρές ποσότητες επιμόλυνσης μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τα αποτελέσματα, ιδιαίτερα όταν οι αναλύσεις πραγματοποιούνται σε επίπεδα ιχνών. Για τον λόγο αυτό, απαιτείται ιδιαίτερα προσεκτικός σχεδιασμός της αναλυτικής διαδικασίας, χρήση κατάλληλων υλικών και εφαρμογή αυστηρών διαδικασιών ποιοτικού ελέγχου.

Η αυξανόμενη επιστημονική και κοινωνική ανησυχία σχετικά με τις PFAS έχει οδηγήσει τα τελευταία χρόνια στη λήψη σημαντικών νομοθετικών μέτρων σε διεθνές επίπεδο. Η Ευρωπαϊκή Ένωση, η Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος των Ηνωμένων Πολιτειών (EPA) και άλλοι διεθνείς οργανισμοί έχουν προχωρήσει στην επιβολή περιορισμών για ορισμένες PFAS ενώσεις και στην ανάπτυξη στρατηγικών παρακολουθήσεις της παρουσίας τους σε τρόφιμα, νερό και περιβαλλοντικά δείγματα. Παρά τις προσπάθειες αυτές, η αξιολόγηση του πραγματικού κινδύνου παραμένει δύσκολη λόγω του μεγάλου αριθμού διαφορετικών PFAS ενώσεων και της περιορισμένης γνώσης σχετικά με τη μακροχρόνια τοξικότητα πολλών από αυτές.

Στο πλαίσιο αυτό, η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση επικεντρώνεται στον προσδιορισμό των PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα, με ιδιαίτερη έμφαση στο γάλα και συμπληρωματικά στο τυρί και το γιαούρτι. Στόχος της εργασίας είναι η παρουσίαση των βασικών χαρακτηριστικών των PFAS, των οδών μεταφοράς τους στα γαλακτοκομικά προϊόντα και κυρίως των σύγχρονων αναλυτικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό τους. Επίσης, εξετάζονται οι δυσκολίες που σχετίζονται με την ανάλυση των PFAS σε σύνθετες γαλακτικές μήτρες, οι τεχνικές προετοιμασίας δείγματος και οι δυνατότητες των σύγχρονων αναλυτικών προσεγγίσεων, όπως η LC-MS/MS, το EOF και η Combustion Ion Chromatography. Μέσα από τη μελέτη της διαθέσιμης βιβλιογραφίας επιχειρείται η συνολική αποτύπωση της σημερινής επιστημονικής γνώσης σχετικά με την παρουσία και τον αναλυτικό προσδιορισμό των PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα, καθώς και η ανάδειξη των κυριότερων

ερευνητικών προκλήσεων που σχετίζονται με την ανίχνευση και αξιολόγηση αυτών των ενώσεων.

2. Χημεία και Ιδιότητες των PFAS

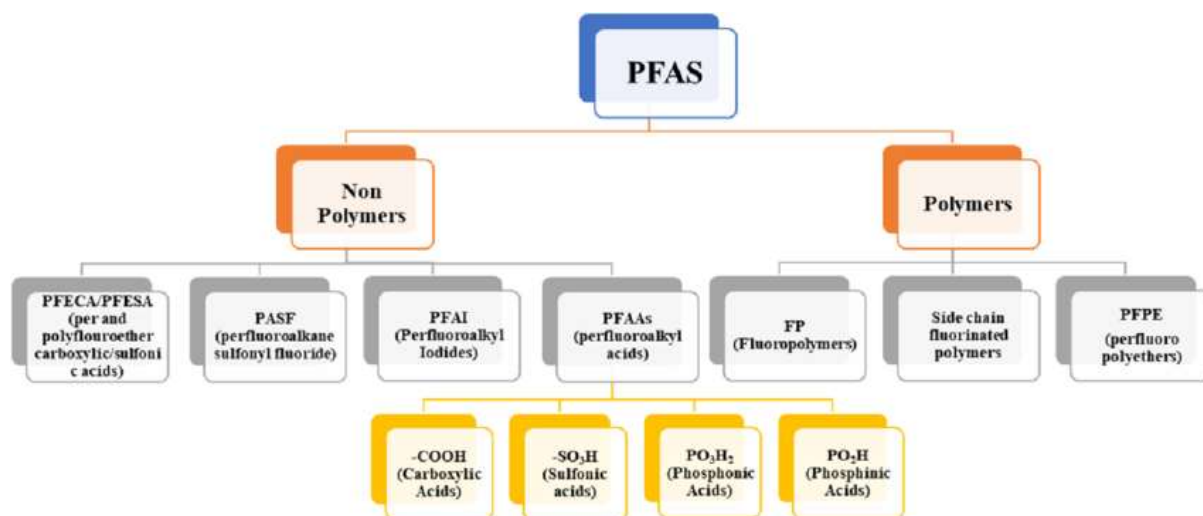
2.1 Χημική δομή και κατηγορίες των PFAS

Οι υπερφθοριωμένες και πολυφθοριωμένες αλκυλιωμένες ενώσεις, γνωστές ως PFAS (Per- and Polyfluoroalkyl Substances), αποτελούν μία ιδιαίτερα εκτεταμένη και σύνθετη ομάδα συνθετικών οργανικών χημικών ενώσεων, οι οποίες έχουν προσελκύσει σημαντικό επιστημονικό ενδιαφέρον λόγω της ευρείας χρήσης τους, της μεγάλης περιβαλλοντικής επιμονής τους και των πιθανών επιπτώσεών τους στην ανθρώπινη υγεία. Οι ενώσεις αυτές χαρακτηρίζονται από την παρουσία δεσμών άνθρακα-φθορίου (C-F), οι οποίοι αποτελούν το βασικό δομικό χαρακτηριστικό όλων των PFAS. Ο δεσμός αυτός θεωρείται ένας από τους πιο ισχυρούς δεσμούς στην οργανική χημεία, γεγονός που προσδίδει στις ενώσεις αυτές εξαιρετική χημική και θερμική σταθερότητα (Buck et al., 2011). Η ιδιαίτερη χημική φύση των PFAS οφείλεται στο γεγονός ότι τα άτομα υδρογόνου της ανθρακικής αλυσίδας έχουν αντικατασταθεί πλήρως ή μερικώς από άτομα φθορίου. Το φθόριο παρουσιάζει πολύ υψηλή ηλεκτραρνητικότητα, με αποτέλεσμα οι δεσμοί C-F να είναι ιδιαίτερα ισχυροί και ανθεκτικοί σε χημικές αντιδράσεις αποδόμησης. Άρα, οι PFAS παρουσιάζουν αντοχή στην οξείδωση, στην υδρόλυση, στη φωτοδιάσπαση και στις περισσότερες βιολογικές διεργασίες, γεγονός που εξηγεί γιατί παραμένουν στο περιβάλλον για τόσο μεγάλο χρονικό διάστημα (Glüge et al., 2020).

Οι PFAS αποτελούν μία εξαιρετικά μεγάλη ομάδα ενώσεων, η οποία περιλαμβάνει περισσότερες από 4.000 διαφορετικές χημικές ουσίες. Παρόλο που οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν μεγάλη δομική ποικιλομορφία, μπορούν γενικά να ταξινομηθούν σε δύο βασικές κατηγορίες: τις υπερφθοριωμένες ενώσεις (perfluoroalkyl substances) και τις πολυφθοριωμένες ενώσεις (polyfluoroalkyl substances). Στις υπερφθοριωμένες ενώσεις όλα τα άτομα υδρογόνου της ανθρακικής αλυσίδας έχουν αντικατασταθεί πλήρως από άτομα

φθορίου, ενώ στις πολυφθοριωμένες ενώσεις μόνο μέρος των ατόμων υδρογόνου έχει αντικατασταθεί. Οι πλήρως φθοριωμένες ενώσεις θεωρούνται συνήθως πιο σταθερές και περισσότερο ανθεκτικές στην αποδόμηση σε σύγκριση με τις μερικώς φθοριωμένες ενώσεις (Wang et al., 2017). Η χημική δομή των PFAS αποτελείται συνήθως από δύο βασικά τμήματα. Το πρώτο είναι η φθοριωμένη ανθρακική αλυσίδα, η οποία είναι υπεύθυνη για τις ιδιαίτερες φυσικοχημικές ιδιότητες των ενώσεων, όπως η υδροφοβικότητα και η λιποφοβικότητα. Το δεύτερο είναι η λειτουργική ομάδα στο άκρο της αλυσίδας, όπως καρβοξυλικές, σουλφονικές ή φωσφονικές ομάδες, οι οποίες επηρεάζουν σημαντικά τη συμπεριφορά των ενώσεων στο περιβάλλον και στους οργανισμούς. Οι διαφορετικές λειτουργικές ομάδες καθορίζουν τη διαλυτότητα, την οξύτητα, τη βιοσυσσωρευση και την τοξικότητα κάθε PFAS ένωσης (Buck et al., 2011).

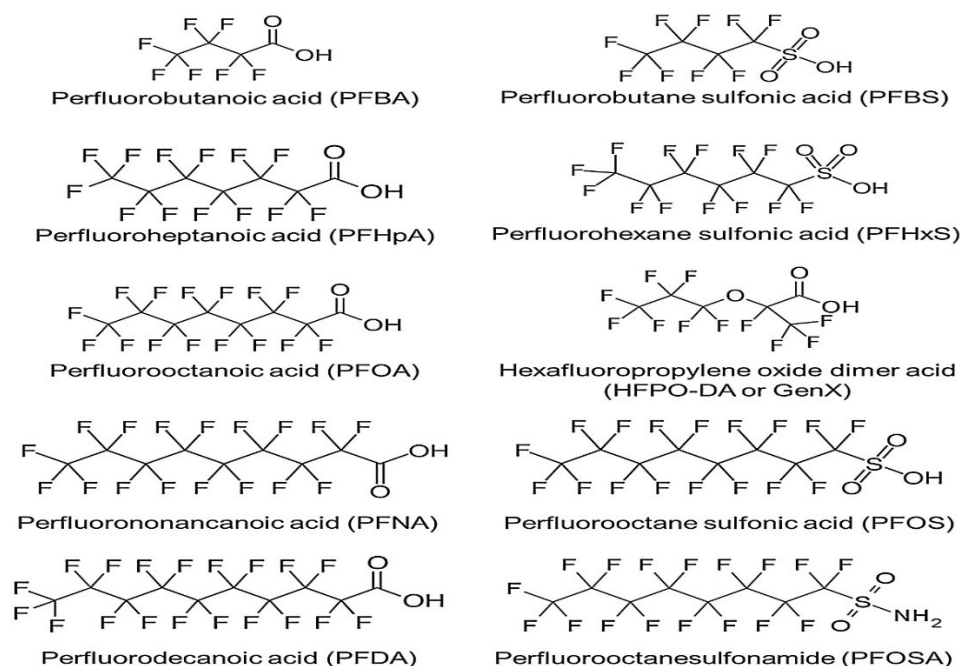
Όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα 5, οι υπερ-και πολυφθοριωμένες ενώσεις (PFAS) διακρίνονται αρχικά σε πολυμερείς και σε μη πολυμερείς ενώσεις.



Σχήμα 5 : Γενικό διάγραμμα ταξινόμησης των ουσιών PFAS σε πολυμερείς και μη πολυμερείς ενώσεις, με βάση τα διεθνή πρότυπα του ΟΟΣΑ (OECD).

Μεταξύ των σημαντικότερων κατηγοριών PFAS συγκαταλέγονται τα υπερφθοροαλκυλικά καρβοξυλικά οξέα (Perfluoroalkyl Carboxylic Acids, PFCAs) και τα υπερφθοροαλκυλικά σουλφονικά οξέα (Perfluoroalkane Sulfonic Acids, PFSA). Τα PFCAs διαθέτουν καρβοξυλική ομάδα (-COOH) στο άκρο της φθοριωμένης ανθρακικής αλυσίδας, ενώ τα PFSA διαθέτουν σουλφονική ομάδα (-SO₃H). Οι δύο αυτές κατηγορίες περιλαμβάνουν τις

πιο γνωστές και περισσότερο μελετημένες PFAS ενώσεις, όπως το υπερφθοροοκτανοϊκό οξύ (PFOA) και το υπερφθοροοκτανοσουλφονικό οξύ (PFOS), οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν ευρέως σε βιομηχανικές εφαρμογές και καταναλωτικά προϊόντα για πολλές δεκαετίες (Buck et al., 2011). Το PFOS και το PFOA αποτελούν ενώσεις ιδιαίτερου ενδιαφέροντος λόγω της μεγάλης περιβαλλοντικής τους διασποράς και της ικανότητάς τους να βιοσυσσωρεύονται στους οργανισμούς. Οι ενώσεις αυτές έχουν ανιχνευθεί σε επιφανειακά και υπόγεια ύδατα, στο έδαφος, στην ατμόσφαιρα, σε άγρια ζώα αλλά και στον ανθρώπινο οργανισμό. Η ευρεία ανίχνευσή τους σε περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα οδήγησε σε αυξημένη επιστημονική και νομοθετική ανησυχία, με αποτέλεσμα τη σταδιακή απαγόρευση ή τον περιορισμό χρήσης τους σε πολλές χώρες.

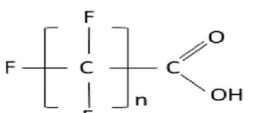
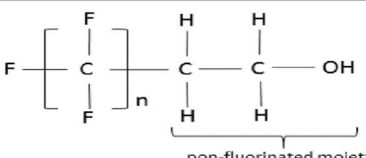


Σχήμα 6 : Παρουσιάζονται οι χημικές δομές των ενώσεων των κατηγοριών :υπερφθοροαλκυλικών καρβοξυλικών οξέων PFCAs όπως το υπερφθοροοκτανοϊκό οξύ (PFOA) με καρβοξυλική κεφαλή και των υπερφθοροαλκυλικών σουλφονικών οξέων (PFSA) όπως το υπερφθοροοκτανοσουλφονικό οξύ (PFOS) με σουλφονική κεφαλή. (U.S. Environmental Protection Agency (EPA) 2018)

Εκτός από τα PFCAs και PFSA, σημαντική κατηγορία αποτελούν και οι πρόδρομες PFAS ενώσεις, όπως οι fluorotelomer alcohols (FTOHs), τα fluorotelomer sulfonates (FTSs) και οι polyfluoroalkyl phosphate esters (PAPs). Οι ενώσεις αυτές δεν είναι πάντα εξαιρετικά σταθερές, ωστόσο μπορούν να μετατραπούν μέσω χημικών ή βιολογικών διεργασιών σε πιο σταθερές PFAS ενώσεις, όπως το PFOS και το PFOA. Για τον λόγο αυτό θεωρούνται ιδιαίτερα σημαντικές από περιβαλλοντική άποψη, καθώς λειτουργούν ως έμμεσες πηγές ρύπανσης (Wang et al., 2017).

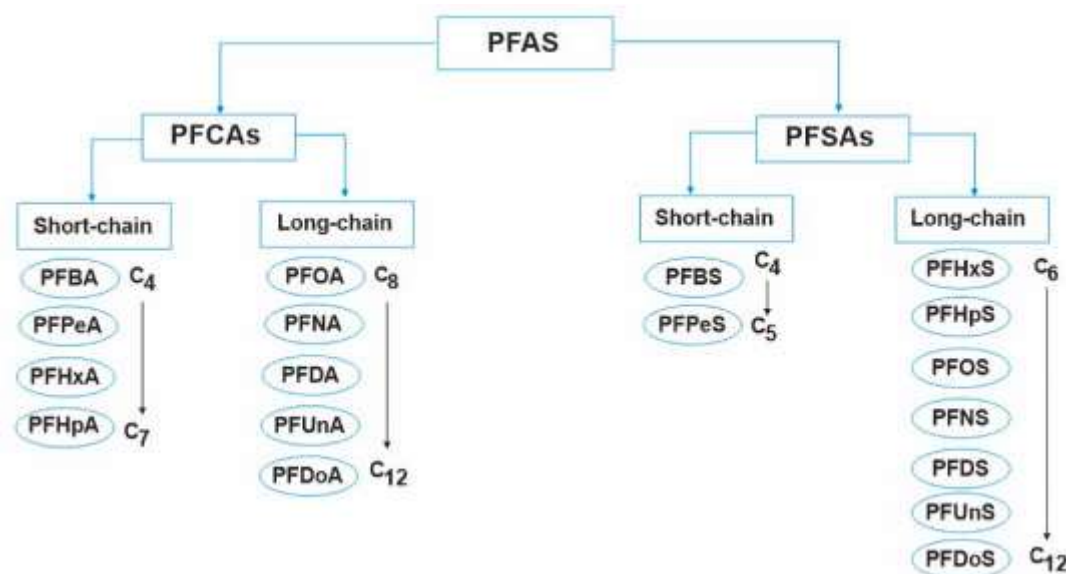
Ένας ακόμη σημαντικός τρόπος ταξινόμησης των PFAS βασίζεται στο μήκος της ανθρακικής αλυσίδας τους. Οι ενώσεις διακρίνονται συνήθως σε μακράς αλυσίδας (long-chain PFAS) και βραχείας αλυσίδας (short-chain PFAS). Ως long-chain θεωρούνται τα υπερφθοροαλκυλικά καρβοξυλικά οξέα με επτά ή περισσότερα άτομα άνθρακα και τα υπερφθοροαλκυλικά σουλφονικά οξέα με έξι ή περισσότερα άτομα άνθρακα δηλαδή (PFHpA (C7), PFOA(C8), PFNA(C9), PFDA(C10), PFUnDA(C11). PFDoDA (C12)). Αντίθετα, οι ενώσεις με μικρότερες ανθρακικές αλυσίδες ταξινομούνται ως short-chain PFAS δηλαδή με λιγότερους από 6 πλήρως φθοριωμένους άνθρακες (PFBS (C5), PFPeS(C5))(Kwiatkowski et al., 2020).

Σχήμα 7 : Δομική σύγκριση μεταξύ PFAS βραχείας αλυσίδας (short- chain) και μακράς αλυσίδας (long-chain) (Stephan Brendel et al.,2018) (Διαθέσιμο με άδεια CC BY 4.0)

Perfluoroalkane sulfonic acids Long-chain: $n \geq 6$ Short-chain: $n < 6$ Example short-chain representative: PFBS ($n = 4$)	
Perfluoroalkyl carboxylic acids Long-chain: $n \geq 7$ Short-chain: $n < 7$ Example short-chain representatives: PFBA ($n = 3$), PFHxA ($n = 5$)	
Example of short-chain precursors 4:2 fluorotelomer alcohol ($n = 4$) 6:2 fluorotelomer alcohol ($n = 6$)	

Οι μακράς αλυσίδας PFAS παρουσιάζουν μεγαλύτερη ικανότητα βιοσυσσωρευσης και μεγαλύτερη συγγένεια με πρωτεΐνες του αίματος και των ιστών. Εξαιτίας αυτών των ιδιοτήτων, οι ενώσεις αυτές παραμένουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στους οργανισμούς και συνδέονται συχνότερα με τοξικολογικές επιπτώσεις. Οι μακράς αλυσίδας ενώσεις χαρακτηρίζονται οι κλασικές παλαιές αλυσίδες (legacy) που παρήχθησαν εκτενώς κατά τον 20^ο αιώνα . Αντίθετα, οι βραχείας αλυσίδας PFAS εμφανίζουν μικρότερη βιοσυσσωρευση αλλά μεγαλύτερη κινητικότητα στο περιβάλλον, κυρίως λόγω της υψηλότερης υδατοδιαλυτότητάς τους. Τα τελευταία χρόνια, πολλές βιομηχανίες έχουν αντικαταστήσει τις long-chain ενώσεις με short-chain PFAS, θεωρώντας ότι είναι λιγότερο επικίνδυνες και έχουν χαρακτηριστεί ως αναδυόμενες ενώσεις PFAS (emerging). Αυτό δεν αποτελεί μόνο κρίσημο σημείο για την επιμονή στο περιβάλλον , αλλά και στο τρόφιμα και συγκεκριμένα στα γαλακτοκομικά προϊόντα εξαιτίας της συγγένειας που εμφανίζουν οι ενώσεις αυτές με τις πρωτεΐνες του γάλακτος .(Abafe et al.,2021; Macheka et al.,2021). Φαίνεται με βάση την έρευνα την έρευνα των Li et al., (2025) να υπάρχει πτώση των παλαιών ενώσεων PFAS εξαιτίας των αυστηρότερων κανονιστικών πλαισίων όμως με τα αναδυόμενα PFAS όπως το διμερές του εξαφθοροπροπυλενίου (HFPO/GenX) και τα σουλφονικά οξέα των φθοριοτελομερών (6:2 FTS) συνεχώς να αυξάνονται .

Ωστόσο, νεότερες μελέτες δείχνουν ότι και οι short-chain ενώσεις παρουσιάζουν σημαντική περιβαλλοντική επιμονή και μπορούν να μεταφέρονται εύκολα μέσω των υδάτων, δημιουργώντας νέα περιβαλλοντικά προβλήματα (Cousins et al., 2019). Η ιδιαίτερη χημική δομή των PFAS είναι υπεύθυνη και για τις μοναδικές φυσικοχημικές ιδιότητές τους. Οι ενώσεις αυτές εμφανίζουν ταυτόχρονα υδροφοβικό και λιποφοβικό χαρακτήρα, γεγονός που τις διαφοροποιεί από τους περισσότερους οργανικούς ρύπους. Η φθοριωμένη ανθρακική αλυσίδα απωθεί τόσο το νερό όσο και τα λίπη, ενώ οι πολικές λειτουργικές ομάδες επιτρέπουν την αλληλεπίδραση με υδατικά περιβάλλοντα. Ως εκ τούτου, πολλές PFAS δρουν ως επιφανειοδραστικές ουσίες, μειώνοντας την επιφανειακή τάση μεταξύ διαφορετικών φάσεων. Η ιδιότητα αυτή εξηγεί τη χρήση τους σε αντικολλητικά υλικά, αδιάβροχες επιφάνειες και πυροσβεστικούς αφρούς (Buck et al., 2011).



Σχήμα 8 : Συγκεντρωτικός πίνακας για τον διαχωρισμό των PFAS , με βάση τα άτομα άνθρακα.

Η μεγάλη ποικιλία χημικών ουσιών στα υπέρ – και πολύ φθοροαλκυλικών ενώσεων δημιουργεί σημαντικές δυσκολίες τόσο στην παρακολούθηση της παρουσίας τους στο περιβάλλον , όσο και στον ακριβή έλεγχο της ανίχνευσης τους . Υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί τύποι ενώσεων, καθώς και οι βιομηχανίες δημιουργούν εναλλακτικές ενώσεις PFAS , με αποτέλεσμα να δυσχεραίνει το πρόβλημα της ταυτοποίηση των ενώσεων αυτών . Ακόμα αποτελεί σημαντικό παράγοντα ότι δεν υπάρχουν αρκετά διαθέσιμα πρότυπα αναφοράς , γεγονός που καθιστά δύσκολη την σωστή κατανόηση καθώς και πόσο επιβλαβείς μπορούν να γίνουν . Επιπλέον , τα ποικίλα φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά κάθε ομάδας PFAS , επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τον τρόπο με τον οποίο δρουν στο περιβάλλον , μετακινούνται στην τροφική αλυσίδα και αλληλεπιδρούν με τους ζωντανούς οργανισμούς . Η γνώση της χημικής σύνθεσης των κυρίων τύπων PFAS είναι απαραίτητη κατά την εξέταση του τρόπου με τον οποίο εμφανίζονται στα τρόφιμα και ειδικά στα γαλακτοκομικά προϊόντα . Τα διάφορα χαρακτηριστικά κάθε ένωσης PFAS , επηρεάζουν τον τρόπο με τον οποίο συσσωρεύονται στο σώμα , μετακινούνται στο γάλα , για αυτό η μελέτη για την κατανόηση των ενώσεων αυτό αποτελεί βασικό σημείο εκκίνησης για την ανίχνευσή τους με την βοήθεια σύγχρονων μεθόδων .

2.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες των PFAS

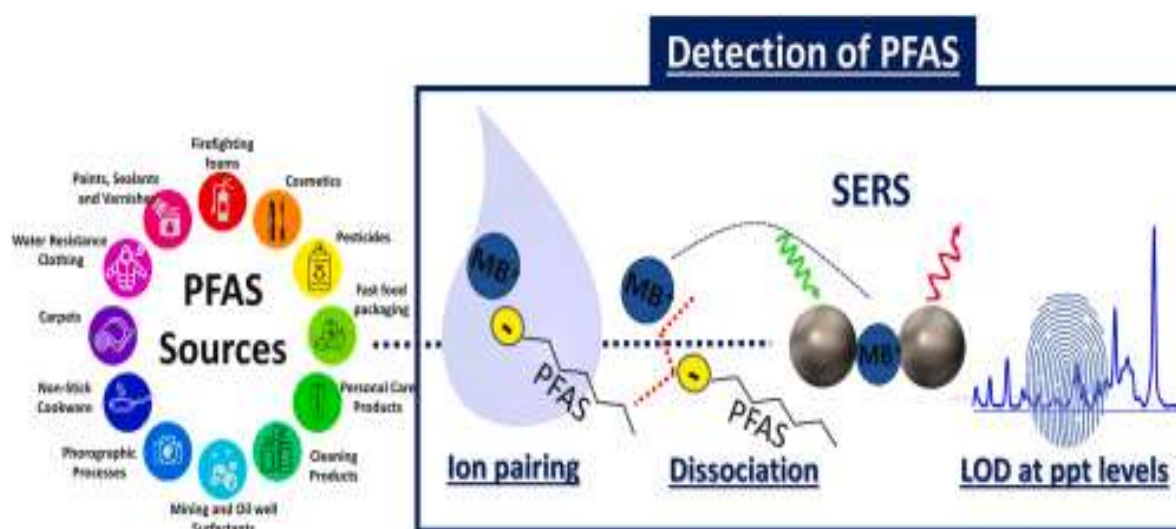
Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των υπερφθοριωμένων και πολυφθοριωμένων αλκαλικών ενώσεων (PFAS) , έχουν προσελκύσει έντονο ενδιαφέρον από τους ερευνητές, διότι αποτελούν μια πολύπλοκη ομάδα ανθρωπογενών οργανικών ενώσεων , εξαιτίας της σταθερότητας και της διασποράς στο περιβάλλον. (Buck et al.,2011). Βασικός πυλώνας των ιδιοτήτων αυτών αποτελεί ο δεσμός άνθρακα φθορίου , με τον οποίο να αποτελεί έναν από τους ισχυρότερους δεσμούς στην οργανική χημεία , με ενέργεια δεσμού κοντά στα 485kJ/mol όπως σημείωσε ο Ο' Hagan το 2008. Επίσης , τα άτομα φθορίου έχουν ισχυρή ικανότητα να έλκουν ηλεκτρόνια (με τιμή 3,98 με βάση την κλίμακα Pauling) , καθώς συμβάλλουν στην προστασία του άνθρακα από πυρηνόφιλα , αφού κάθε άτομο φθορίου αποτελείται από τρία ζεύγη ηλεκτρονίων (Kissa et al.,2001) . Λόγω αυτής της δομής , τα PFAS έχουν εξαιρετική θερμική σταθερότητα , άρα αντέχουν σε υψηλές θερμοκρασίες χωρίς να διασπαστούν.

Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των PFAS είναι ότι παρουσιάζουν όχι μόνο υδροφοβικότητα αλλά και λιποφοβικότητα. Σε αντίθεση με πολλούς άλλους οργανικούς ρύπους που τείνουν να διαλύονται και να συσσωρεύονται στα λιπίδια, οι PFAS εμφανίζουν μικρότερη συγγένεια με τα λιπαρά και μεγαλύτερη αλληλεπίδραση με πρωτεΐνες και υδατικά περιβάλλοντα. Η ιδιότητα αυτή διαφοροποιεί σημαντικά τη συμπεριφορά τους από άλλους ανθεκτικούς οργανικούς ρύπους, όπως οι διοξίνες ή τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs). Οι PFAS έχουν την ικανότητα να συνδέονται με πρωτεΐνες του αίματος και των ιστών, όπως η λευκωματίνη και διάφορες ηπατικές πρωτεΐνες, γεγονός που επηρεάζει τη μεταφορά και τη βιοσυσσώρευσή τους στους οργανισμούς (Sunderland et al., 2019).

Η επιφανειοδραστική συμπεριφορά των PFAS αποτελεί μία ακόμη σημαντική φυσικοχημική ιδιότητα. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να συσσωρεύονται στη διεπιφάνεια μεταξύ διαφορετικών φάσεων, μειώνοντας την επιφανειακή τάση και μεταβάλλοντας τις ιδιότητες των υγρών (Kissa et al.,2001; Buck et al.,2011). Αυτή η επιφανειοδραστική χρήση (surfactants) , οφείλεται στην διπλή τους φύση (υπερφθοριωμένη αλυσίδα υδρόφοβη και κεφαλή της ένωσης υδρόφιλη -COOH ή SO₃H) , δημιουργώντας υδατικά φιλμ .Αυτή η ιδιότητα εξηγεί τη χρήση τους σε εφαρμογές όπως οι πυροσβεστικοί αφροί, όπου απαιτείται γρήγορη εξάπλωση του αφρού και αποτελεσματική κάλυψη των επιφανειών. (Buck et al.,2011; Glüge et al.,2020). Πάραυτα, η ίδια ιδιότητα επηρεάζει και τη συμπεριφορά τους στο περιβάλλον, καθώς διευκολύνει τη

μεταφορά τους μέσω του νερού και των βιολογικών συστημάτων (Ahrens et al.,2011; Wang et al., 2017).

Λόγω λοιπόν , των χαρακτηριστικών αυτών , τα PFAS άρχισαν να χρησιμοποιούνται ευρέως στην κατασκευή αντικολλητικών επιστρώσεων όπως το πολυτετραφθοροαιθυλένιο (PTFE) , στη δημιουργία υδατοαπωθητικών και ανθεκτικών στους λεκέδες υφασμάτων , στην κατασκευή συσκευασίας τροφίμων που αντέχουν στο λίπος , σε χρώματα , βερνίκια , στην κατασκευή καλλυντικών καθώς βρίσκουν χρήση και σε άλλες εφαρμογές .



Σχήμα 9: Σχηματική απεικόνιση των πηγών προέλευσης και του μηχανισμού ανίχνευσης σε επίπεδα ppt (parts-per trillion) (Λαδά et al., 2024)

Η φυσικοχημική συμπεριφορά των PFAS επηρεάζει άμεσα και τη μεταφορά τους στην τροφική αλυσίδα. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να μεταφέρονται μέσω του νερού, του εδάφους και των ζωοτροφών σε παραγωγικά ζώα, ενώ στη συνέχεια μεταφέρονται σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης, όπως το γάλα, το κρέας και τα αυγά (Domingo & Nadal ,2019; EFSA,2020). Η τάση ορισμένων PFAS να συνδέονται με πρωτεΐνες επηρεάζει σημαντικά τη συμπεριφορά τους στα γαλακτοκομικά προϊόντα . Το γάλα, για παράδειγμα, αποτελεί ένα σύνθετο βιολογικό σύστημα που περιέχει πρωτεΐνες, λίπη και υδατικά συστατικά, γεγονός που επηρεάζει την κατανομή και τη σταθερότητα των PFAS στη γαλακτική μήτρα , αλλά σε μικρότερο βαθμό με τα λιπίδια (Vestergren et al.,2013; Kowalczyk et al.,2013)

Ένα ακόμη σημαντικό χαρακτηριστικό των PFAS είναι η μεγάλη περιβαλλοντική κινητικότητα τους. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να μεταφέρονται μέσω των επιφανειακών και υπόγειων υδάτων, της ατμόσφαιρας και των θαλάσσιων ρευμάτων σε πολύ μεγάλες αποστάσεις. Έτσι, PFAS έχουν ανιχνευθεί ακόμη και σε απομακρυσμένες περιοχές χωρίς άμεσες πηγές ρύπανσης, όπως στην Αρκτική και την Ανταρκτική. Η παγκόσμια διασπορά τους σχετίζεται άμεσα με τις φυσικοχημικές ιδιότητές τους και ιδιαίτερα με τη σταθερότητα και την κινητικότητά τους στο περιβάλλον (Wang et al., 2017).

Ενώσεις PFAS	Φυσικοχημικές Ιδιότητες	Βιομηχανικές Χρήσεις	Βιβλιογραφικές Αναφορές
PFOS (Υπερφθοροοκτανοσουλφονικό οξύ)	Υψηλή υδατοδιαλυτότητα, ισχυρή προσρόφηση σε πρωτεΐνες αίματος, χαμηλή επιφανειακή τάση.	Αδιάβροχα υφάσματα, πυροσβεστικοί αφροί	Moody & Field (2000) ; Giesy & Kannan (2001)
FTOHs (Φθοριοτελομερείς αλκοόλες)	Πτητικές, μερική διαλυτότητα σε οργανικούς διαλύτες	Αντοχή σε λεκέδες χαλιά, χαρτη, επιφανειοδραστικές ενώσεις.	Ellis et al.,(2004); Dinglasan et al.,(2004)
PFOA (Υπερφθοροοκτανοϊκό οξύ)	Υψηλή θερμική σταθερότητα, ελαιοφοβό και υδρόφοβο	Τεφλόν, αντικολλητικά σκεύη, συσκευασίες τροφίμων.	Prevedouros et al.,(2006); Buck et al., (2011)

PFHxA (Υπερφθοροεξάνοϊκό Οξύ)	Υψηλή υδατοδιαλυτότητα	Χρήση σε κλωστοϋφαντουργικά.	Ahrens et al.,(2011); Brendel et al., (2018)

Πίνακας 1 : Κάποιες Ενώσεις PFAS με βάση τις φυσικοχημικές ιδιότητες και τις χρήσεις τους .

2.3 Περιβαλλοντική επιμονή και βιοσυσσώρευση των PFAS

Η περιβαλλοντική επιμονή και η βιοσυσσώρευση αποτελούν δύο από τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά των υπερφθοριωμένων και πολυφθοριωμένων αλκυλιωμένων ενώσεων (PFAS), τα οποία ευθύνονται σε μεγάλο βαθμό για τη διεθνή ανησυχία σχετικά με τις επιπτώσεις τους στο περιβάλλον και στην ανθρώπινη υγεία. Οι ενώσεις αυτές χαρακτηρίζονται από εξαιρετικά μεγάλη σταθερότητα, γεγονός που τους επιτρέπει να παραμένουν στο περιβάλλον για μεγάλα χρονικά διαστήματα και να μεταφέρονται μέσω της τροφικής αλυσίδας σε ανθρώπους και ζώα. Η αυξανόμενη παρουσία τους σε περιβαλλοντικά δείγματα, τρόφιμα και βιολογικούς οργανισμούς έχει οδηγήσει στην αναγνώριση των PFAS ως μίας από τις σημαντικότερες κατηγορίες αναδυόμενων περιβαλλοντικών ρύπων.

Η υψηλή περιβαλλοντική επιμονή των PFAS σχετίζεται άμεσα με τη χημική τους δομή και ιδιαίτερα με την παρουσία ισχυρών δεσμών άνθρακα-φθορίου (C–F). Οι δεσμοί αυτοί παρουσιάζουν πολύ υψηλή ενέργεια σύνδεσης και θεωρούνται από τους ισχυρότερους δεσμούς στην οργανική χημεία. Άρα, οι PFAS εμφανίζουν εξαιρετική ανθεκτικότητα σε φυσικές, χημικές και βιολογικές διεργασίες αποδόμησης (Buck et al., 2011). Οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν αντοχή στην υδρόλυση, στην οξείδωση, στη φωτοδιάσπαση και στη μικροβιακή αποδόμηση, γεγονός που εξηγεί γιατί μπορούν να παραμένουν στο περιβάλλον για δεκαετίες ή ακόμη και αιώνες χωρίς να αποικοδομούνται σημαντικά. Η μεγάλη επιμονή των PFAS στο περιβάλλον έχει οδηγήσει στη συνεχή συσσώρευσή τους σε διαφορετικά οικοσυστήματα. Οι ενώσεις αυτές έχουν ανιχνευθεί σε επιφανειακά και υπόγεια ύδατα, στο έδαφος, στα ιζήματα,

στην ατμόσφαιρα, καθώς και σε οργανισμούς σε ολόκληρο τον κόσμο. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι PFAS μπορούν να μεταφέρονται σε μεγάλες αποστάσεις μέσω της ατμόσφαιρας και των υδάτινων ρευμάτων, γεγονός που εξηγεί την παρουσία τους ακόμη και σε απομακρυσμένες περιοχές χωρίς άμεσες πηγές ρύπανσης (Glüge et al., 2020). Η ευρεία γεωγραφική κατανομή των ενώσεων αυτών αποτελεί μία από τις βασικές περιβαλλοντικές προκλήσεις που σχετίζονται με τη διαχείριση των PFAS.

Η εκτεταμένη χρήση των PFAS σε βιομηχανικές και καταναλωτικές εφαρμογές συνέβαλε σημαντικά στην παγκόσμια διασπορά τους. Οι ενώσεις αυτές χρησιμοποιήθηκαν για πολλές δεκαετίες σε αντικολλητικά σκεύη, αδιάβροχα υφάσματα, πυροσβεστικούς αφρούς, υλικά συσκευασίας τροφίμων και πολλές άλλες εφαρμογές λόγω των ιδιαίτερων φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους (Glüge et al., 2020). Κατά την παραγωγή, χρήση και απόρριψη αυτών των προϊόντων, σημαντικές ποσότητες PFAS απελευθερώνονται στο περιβάλλον, με αποτέλεσμα τη συνεχή επιβάρυνση υδάτινων και χερσαίων οικοσυστημάτων.

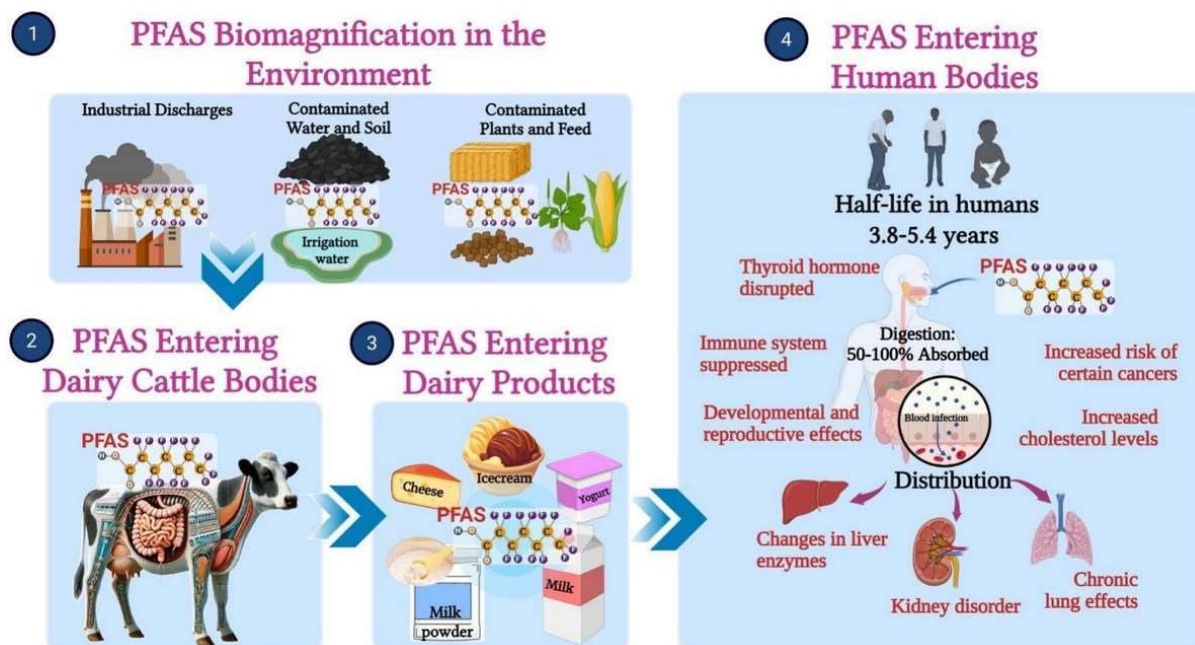
Ένα ακόμη ιδιαίτερα σημαντικό χαρακτηριστικό των PFAS είναι η ικανότητά τους να βιοσυσσωρεύονται στους οργανισμούς. Η βιοσυσσώρευση αναφέρεται στη σταδιακή αύξηση της συγκέντρωσης μιας ουσίας στους ιστούς ενός οργανισμού λόγω συνεχούς έκθεσης και περιορισμένης δυνατότητας αποβολής της. Σε αντίθεση με πολλούς άλλους οργανικούς ρύπους που συσσωρεύονται κυρίως στα λιπίδια, οι PFAS εμφανίζουν μεγαλύτερη συγγένεια με πρωτεΐνες του αίματος και των ιστών. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να συνδεθούν ισχυρά με πρωτεΐνες όπως η λευκωματίνη, καθώς και με πρωτεΐνες του ήπατος και των νεφρών, γεγονός που διευκολύνει την παραμονή τους στον οργανισμό για μεγάλα χρονικά διαστήματα (Sunderland et al., 2019). Η βιοσυσσώρευση των PFAS εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας και τη χημική δομή κάθε ένωσης. Οι long-chain PFAS παρουσιάζουν συνήθως μεγαλύτερη τάση βιοσυσσώρευσης σε σύγκριση με τις short-chain ενώσεις. Το υπερφθοροοκτανοσουλφονικό οξύ (PFOS) και το υπερφθοροοκτανοϊκό οξύ (PFOA), τα οποία ανήκουν στις long-chain PFAS, έχουν ανιχνευθεί σε υψηλές συγκεντρώσεις σε ανθρώπινο αίμα, ήπαρ, νεφρούς και άλλους βιολογικούς ιστούς. Οι ενώσεις αυτές εμφανίζουν μεγάλους χρόνους ημιζωής στον ανθρώπινο οργανισμό, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο χρόνιας έκθεσης και τοξικότητας (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, 2020).

Η συνεχής παρουσία των PFAS στο περιβάλλον επιτρέπει τη μεταφορά τους στην τροφική αλυσίδα. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να απορροφηθούν από φυτικούς και υδρόβιους οργανισμούς και στη συνέχεια να μεταφερθούν σε υψηλότερα τροφικά επίπεδα μέσω της τροφικής αλυσίδας. Η διαδικασία αυτή οδηγεί στη βιομεγέθυνση, δηλαδή στην αύξηση των συγκεντρώσεων PFAS όσο προχωρά κανείς σε ανώτερα τροφικά επίπεδα. Ως αποτέλεσμα, οι υψηλότερες συγκεντρώσεις συχνά ανιχνεύονται σε οργανισμούς που βρίσκονται στην κορυφή της τροφικής αλυσίδας, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου (Sunderland et al., 2019). Η παρουσία PFAS σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό ζήτημα για τη δημόσια υγεία. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να εισέλθουν στα παραγωγικά ζώα μέσω μολυσμένων ζωοτροφών, νερού ή εδάφους και στη συνέχεια να μεταφερθούν σε τρόφιμα όπως το κρέας, τα αυγά και το γάλα. Η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων έχει αναγνωρίσει ότι η κατανάλωση τροφίμων αποτελεί μία από τις σημαντικότερες οδούς ανθρώπινης έκθεσης στα PFAS, ιδιαίτερα μέσω τροφίμων ζωικής προέλευσης (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, 2020).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρουσία PFAS στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα, καθώς τα προϊόντα αυτά καταναλώνονται ευρέως από όλες τις ηλικιακές ομάδες. Τα παραγωγικά ζώα μπορούν να προσλαμβάνουν PFAS μέσω μολυσμένων ζωοτροφών και νερού, ενώ οι ενώσεις αυτές μπορούν να μεταφερθούν στο γάλα μέσω της κυκλοφορίας του αίματος. Οι Barbarossa et al. (2014) κατέγραψαν την παρουσία PFAS σε γάλα που παράγεται στη βόρεια Ιταλία, επιβεβαιώνοντας ότι οι ενώσεις αυτές μπορούν να ανιχνευθούν σε γαλακτοκομικά προϊόντα. Αντίστοιχα, οι Sznajder-Katarzyńska et al. (2019) ανέφεραν την παρουσία διαφόρων PFAS σε γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα, υπογραμμίζοντας τη σημασία της παρακολούθησης των συγκεκριμένων τροφίμων.

Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι οι συγκεντρώσεις PFAS στο γάλα επηρεάζονται από την εγγύτητα των φαρμών σε περιοχές περιβαλλοντικής ρύπανσης. Οι Glynn et al. (2026) μελέτησαν την παρουσία PFAS σε γάλα αγελάδων σε περιοχές της Σουηδίας κοντά σε μολυσμένες τοποθεσίες και διαπίστωσαν σημαντικές διαφοροποιήσεις στα επίπεδα PFAS ανάλογα με την περιβαλλοντική επιβάρυνση της περιοχής. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι το γάλα μπορεί να λειτουργήσει τόσο ως δείκτης περιβαλλοντικής ρύπανσης όσο και ως πιθανή πηγή ανθρώπινης έκθεσης.

Η βιοσυσσωρευση των PFAS δεν περιορίζεται μόνο στα παραγωγικά ζώα αλλά αφορά και τον άνθρωπο. Η συνεχής κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν PFAS μπορεί να οδηγήσει σε σταδιακή αύξηση των συγκεντρώσεων αυτών των ενώσεων στον ανθρώπινο οργανισμό. Σύμφωνα με την EFSA, η χρόνια έκθεση σε PFAS έχει συσχετιστεί με διάφορες ανεπιθύμητες επιπτώσεις στην υγεία, όπως διαταραχές του ανοσοποιητικού συστήματος, αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης, ηπατοτοξικότητα και προβλήματα ανάπτυξης και αναπαραγωγής (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, 2020).



Σχήμα 10: Σχηματική αναπαράσταση με βάση το φαινόμενο της βιομεγένθυσης των ενώσεων PFAS από την βιομηχανική ρύπανση μέχρι την επιρροή του ανθρώπου και των ζώων μέσω της τροφικής αλυσίδας. (Khanashyam et al., 2025)

Συγχρόνως, η συνεχής ανάπτυξη νέων PFAS ενώσεων δημιουργεί επιπλέον προκλήσεις για την αξιολόγηση της περιβαλλοντικής τους συμπεριφοράς. Παρόλο που πολλές long-chain PFAS έχουν περιοριστεί ή απαγορευτεί, η βιομηχανία έχει στραφεί στη χρήση short-chain ενώσεων και άλλων εναλλακτικών PFAS. Ωστόσο, οι ενώσεις αυτές εξακολουθούν να παρουσιάζουν υψηλή περιβαλλοντική επιμονή και κινητικότητα, ενώ οι μακροχρόνιες επιπτώσεις τους δεν έχουν ακόμη πλήρως διευκρινιστεί (Cousins et al., 2019). Για τον λόγο

αυτό, αρκετοί επιστήμονες προτείνουν τη διαχείριση των PFAS ως ενιαίας χημικής κατηγορίας και όχι ως μεμονωμένων ενώσεων.

Η περιβαλλοντική επιμονή και η βιοσυσσώρευση των PFAS αποτελούν βασικούς λόγους για τους οποίους οι ενώσεις αυτές θεωρούνται σήμερα σημαντικοί περιβαλλοντικοί και διατροφικοί ρύποι. Η συνεχής παρουσία τους στο περιβάλλον, η μεταφορά τους στην τροφική αλυσίδα και η δυνατότητα συσσώρευσής τους στους οργανισμούς δημιουργούν σημαντικές προκλήσεις για την προστασία της δημόσιας υγείας και του περιβάλλοντος. Για τον λόγο αυτό, η κατανόηση της συμπεριφοράς και της παρουσίας των PFAS στα τρόφιμα και ιδιαίτερα στα γαλακτοκομικά προϊόντα θεωρείται απαραίτητη για την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών παρακολούθησης και περιορισμού της ανθρώπινης έκθεσης.



Σχήμα 11: Σχηματική Αναπαράσταση της ανθρώπινης έκθεσης (Human Exposure) σε ενώσεις PFAS (Shi et al., 2024)

3. Πηγές PFAS και Είσοδος στην Τροφική Αλυσίδα

Οι PFAS εισέρχονται στην τροφική αλυσίδα κυρίως μέσω της περιβαλλοντικής ρύπανσης που προκαλείται από τη μακροχρόνια βιομηχανική χρήση τους. Από τα μέσα του 20ού αιώνα, οι ενώσεις αυτές χρησιμοποιήθηκαν εκτεταμένα σε πλήθος εφαρμογών, όπως πυροσβεστικοί αφροί, αντικολλητικές επιστρώσεις, αδιάβροχα υφάσματα, υλικά συσκευασίας τροφίμων, βιομηχανικά λιπαντικά και επιφανειοδραστικά προϊόντα. Η ευρεία χρήση τους οφείλεται στη μεγάλη θερμική και χημική σταθερότητα, καθώς και στην ικανότητά τους να απωθούν τόσο το νερό όσο και τα λίπη. Ωστόσο, οι ίδιες ιδιότητες που τις καθιστούν χρήσιμες βιομηχανικά

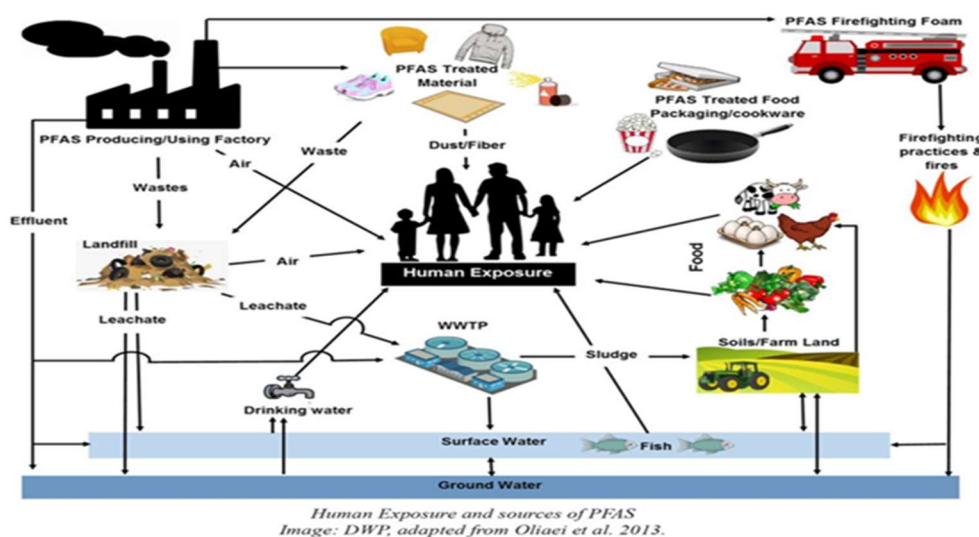
είναι και αυτές που ευθύνονται για την περιβαλλοντική τους επιμονή και τη δυσκολία απομάκρυνσής τους από το περιβάλλον (Buck et al., 2011).

Οι σημαντικότερες πηγές PFAS περιλαμβάνουν βιομηχανικές εγκαταστάσεις παραγωγής ή χρήσης φθοριωμένων ενώσεων, χώρους όπου χρησιμοποιήθηκαν πυροσβεστικοί αφροί, εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων και χώρους διάθεσης απορριμμάτων. Οι PFAS μπορούν να απελευθερωθούν στο περιβάλλον μέσω υγρών αποβλήτων, ατμοσφαιρικών εκπομπών, απορροής από μολυσμένες επιφάνειες και διάθεσης προϊόντων που περιέχουν φθοριωμένες ουσίες. Οι Glüge et al. (2020) κατέγραψαν μεγάλο αριθμό βιομηχανικών και καταναλωτικών χρήσεων των PFAS, δείχνοντας ότι οι πιθανές πηγές ρύπανσης είναι πολλές και συχνά διάσπαρτες. Αυτό καθιστά ιδιαίτερα δύσκολη την πλήρη αναγνώριση και τον έλεγχο όλων των σημείων εισόδου των ενώσεων αυτών στο περιβάλλον. Η ρύπανση των υδάτων αποτελεί βασική οδό εισόδου των PFAS στην τροφική αλυσίδα (Buck et al.,2011; Gluge et al.,2020). Οι ενώσεις αυτές, ιδιαίτερα οι μικρής ανθρακικής αλυσίδας, παρουσιάζουν υψηλή κινητικότητα στο νερό και μπορούν να μεταφέρονται σε μεγάλες αποστάσεις μέσω επιφανειακών και υπόγειων υδάτων (Cousins et al 2016; Gluge et al.,2020) . Έτσι, επιμολυσμένα ποτάμια, λίμνες, γεωτρήσεις ή αρδευτικά συστήματα μπορούν να αποτελέσουν πηγή έκθεσης τόσο για τις καλλιέργειες όσο και για τα παραγωγικά ζώα. Το νερό που χρησιμοποιείται για πότισμα ζώων έχει ιδιαίτερη σημασία στην κτηνοτροφία, καθώς η συνεχής κατανάλωσή του μπορεί να οδηγήσει σε σταδιακή πρόσληψη PFAS από τον οργανισμό των ζώων (Kowalczyk et al.,2013). Συγχρόνως, η χρήση μολυσμένου νερού για άρδευση μπορεί να οδηγήσει σε επιβάρυνση φυτικών προϊόντων και ζωοτροφών(Ghisi et al., 2019).

Το έδαφος αποτελεί επίσης σημαντικό περιβαλλοντικό μέσο μεταφοράς PFAS. Η ρύπανση του εδάφους μπορεί να προκύψει από βιομηχανικές αποθέσεις, χρήση ως λίπασμα, απόθεση ατμοσφαιρικών σωματιδίων ή διαρροές από μολυσμένες περιοχές (Ghisi et al.,2019; Gluge et al.,2020). Οι PFAS έχουν την δυνατότητα είτε να παραμείνουν προσροφημένες στην οργανική ύλη του εδάφους είτε να μετακινηθούν προς τα υπόγεια ύδατα, ανάλογα με τη χημική τους δομή. Οι ενώσεις με μεγαλύτερη ανθρακική αλυσίδα τείνουν να προσροφώνται περισσότερο στο έδαφος και στα ιζήματα, ενώ οι μικρότερες ενώσεις είναι συνήθως πιο κινητικές (Ahrens et al.,2011). Αυτή η συμπεριφορά επιτρέπει τη μακροχρόνια παρουσία PFAS σε γεωργικές εκτάσεις και αυξάνει την πιθανότητα μεταφοράς τους σε φυτά που χρησιμοποιούνται ως τροφή ή ζωοτροφή.

Η ρύπανση των ζωοτροφών αποτελεί κρίσιμο στάδιο για την είσοδο των PFAS στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Τα παραγωγικά ζώα μπορούν να εκτεθούν μέσω κατανάλωσης μολυσμένου χόρτου, σανού, ενσιρώματος, συμπυκνωμένων ζωοτροφών ή νερού. Εφόσον οι PFAS εισέλθουν στον οργανισμό, απορροφώνται από το γαστρεντερικό σύστημα και μεταφέρονται μέσω του αίματος σε διάφορους ιστούς. Σε αντίθεση με άλλους οργανικούς ρύπους που συσσωρεύονται κυρίως στο λίπος, πολλές PFAS έχουν μεγαλύτερη συγγένεια με τις πρωτεΐνες του αίματος, του ήπατος και των νεφρών. Αυτό επηρεάζει τόσο την κατανομή τους στον οργανισμό όσο και τη δυνατότητα μεταφοράς τους σε προϊόντα όπως το κρέας, τα αυγά και το γάλα.

Σχήμα 12: Οι κύριες πηγές έκθεσης των PFAS στο περιβάλλον και επιμόλυνσης στις καλλιεργήσιμες εκτάσεις και της τροφικής αλυσίδας. (προσαρμογή από Oliaei et al., 2013)



Η μεταφορά PFAS στα παραγωγικά ζώα έχει μελετηθεί πειραματικά σε γαλακτοπαραγωγές αγελάδες. Οι Kowalczyk et al. (2013) έδειξαν ότι PFAS όπως PFBS, PFHxS, PFOS και PFOA μπορούν να μεταφερθούν από μολυσμένη ζωοτροφή στο αίμα, στους ιστούς και στο γάλα αγελάδων. Η μελέτη αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική, διότι αποδεικνύει ότι η διατροφική έκθεση των ζώων μπορεί να οδηγήσει σε παρουσία PFAS σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Ακόμη, έδειξε ότι οι διαφορετικές PFAS ενώσεις δεν συμπεριφέρονται με τον ίδιο τρόπο: ορισμένες αποβάλλονται ταχύτερα, ενώ άλλες παραμένουν περισσότερο στον οργανισμό και

παρουσιάζουν μεγαλύτερη τάση συσσώρευσης. Η μεταφορά PFAS στο γάλα έχει ιδιαίτερη σημασία για την ασφάλεια τροφίμων, επειδή το γάλα καταναλώνεται συχνά και από ευάλωτες ομάδες, όπως παιδιά και έγκυες γυναίκες. Οι PFAS μπορούν να περάσουν στο γάλα μέσω της κυκλοφορίας του αίματος και να συνδεθούν με συστατικά της γαλακτικής μήτρας, κυρίως με πρωτεΐνες. Αν και το γάλα έχει σημαντική περιεκτικότητα σε λίπος, η συμπεριφορά των PFAS δεν καθορίζεται αποκλειστικά από τη λιποδιαλυτότητα, όπως συμβαίνει με άλλους ανθεκτικούς οργανικούς ρύπους. Η πρωτεϊνική δέσμευση φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά και παρουσία τους στο γάλα.

Η παρουσία PFAS σε γάλα εμπορικής προέλευσης έχει επιβεβαιωθεί και σε μελέτες παρακολούθησης. Πρόσφατες μελέτες των Abafe et al. (2021) και Glynn et al (2024) ανίχνευσαν PFOS και PFOA σε αγελαδινό γάλα στην Ιταλία, δείχνοντας ότι οι PFAS μπορούν να φτάσουν μέχρι το τελικό τρόφιμο που καταναλώνεται από τον άνθρωπο. Αν και οι συγκεντρώσεις που αναφέρονται σε τέτοιες μελέτες μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή, την πηγή ρύπανσης και τις συνθήκες εκτροφής, τα δεδομένα επιβεβαιώνουν ότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα πρέπει να περιλαμβάνονται στα προγράμματα παρακολούθησης PFAS.

Η βιοσυσσώρευση στην τροφική αλυσίδα αποτελεί βασικό λόγο ανησυχίας. Οι PFAS μπορούν να μεταφερθούν από το περιβάλλον στα φυτά, από τα φυτά στα ζώα και στη συνέχεια στον άνθρωπο μέσω της κατανάλωσης τροφίμων. Η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων αναγνώρισε ότι η διατροφή αποτελεί σημαντική οδό ανθρώπινης έκθεσης σε PFAS και όρισε ανεκτή εβδομαδιαία πρόσληψη για το άθροισμα των PFOS, PFOA, PFNA και PFHxS (EFSA CONTAM Panel, 2020). Αυτό δείχνει ότι η αξιολόγηση της παρουσίας PFAS στα τρόφιμα δεν πρέπει να περιορίζεται σε μεμονωμένες ενώσεις, αλλά να λαμβάνει υπόψη τη συνδυασμένη έκθεση από πολλές πηγές.

4. PFAS στα Γαλακτοκομικά Προϊόντα

4.1 Παρουσία PFAS στα τρόφιμα

Οι υπερφθοριωμένες και πολυφθοριωμένες αλκυλιωμένες ενώσεις (PFAS) αποτελούν μία από τις σημαντικότερες κατηγορίες αναδυόμενων περιβαλλοντικών ρύπων λόγω της μεγάλης περιβαλλοντικής επιμονής τους και της ικανότητάς τους να μεταφέρονται και να συσσωρεύονται στην τροφική αλυσίδα (Kraft & Riess, 2015). Τα τελευταία χρόνια, η παρουσία PFAS στα τρόφιμα έχει αποτελέσει αντικείμενο εκτεταμένης επιστημονικής έρευνας, καθώς η διατροφή θεωρείται μία από τις βασικές οδούς ανθρώπινης έκθεσης στις ενώσεις αυτές (Sunderland et al., 2019). Οι PFAS έχουν ανιχνευθεί σε πληθώρα τροφίμων φυτικής και ζωικής προέλευσης, συμπεριλαμβανομένων ψαριών, θαλασσινών, κρέατος, αυγών, δημητριακών, φρούτων, λαχανικών και γαλακτοκομικών προϊόντων (EFSA CONTAM Panel, 2020). Η παρουσία τους στα τρόφιμα σχετίζεται άμεσα με τη ρύπανση του νερού, του εδάφους και των ζωοτροφών, αλλά και με τη χρήση υλικών συσκευασίας που περιέχουν φθοριωμένες ενώσεις. Οι συγκεντρώσεις PFAS στα τρόφιμα διαφέρουν σημαντικά μεταξύ κατηγοριών τροφίμων και γεωγραφικών περιοχών. Γενικά, τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις λόγω της βιοσυσσώρευσης και της βιομεγέθυνσης κατά μήκος της τροφικής αλυσίδας. Ιδιαίτερα τα ψάρια και τα θαλασσινά θεωρούνται από τις σημαντικότερες πηγές διατροφικής έκθεσης του ανθρώπου. Οι Yamada et al. (2014) μελέτησαν την παρουσία PFAS σε ψάρια γλυκού και θαλάσσιου νερού στη Γαλλία και ανέφεραν σημαντικές διαφοροποιήσεις στις συγκεντρώσεις ανάλογα με το είδος και την προέλευση των δειγμάτων. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν ότι τα υδάτινα οικοσυστήματα αποτελούν σημαντική δεξαμενή PFAS και ότι οι ενώσεις αυτές μπορούν να μεταφέρονται αποτελεσματικά στους υδρόβιους οργανισμούς σύμφωνα με μεταγενέστερες ευρωπαϊκές μελέτες (Dassuncao et al., 2018).

Εκτός από τα αλιεύματα, PFAS έχουν ανιχνευθεί και σε άλλα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, όπως το κρέας, τα αυγά και τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Οι Tittlemier et al. (2007) κατέγραψαν την παρουσία PFOS και PFOA σε σύνθετα δείγματα τροφίμων στον Καναδά και ανέφεραν ότι τα προϊόντα ζωικής προέλευσης συμβάλλουν σημαντικά στη συνολική διατροφική έκθεση. Οι συγκεντρώσεις που παρατηρούνται εξαρτώνται από την περιβαλλοντική επιβάρυνση της περιοχής παραγωγής όπως για παράδειγμα αν βρίσκονται κοντά σε αεροδρόμια, βιομηχανικές ζώνες, την ποιότητα των ζωοτροφών και τις συνθήκες εκτροφής των ζώων (Inukai et al., 2021).

Η παρουσία PFAS σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης σχετίζεται κυρίως με τη χρήση μολυσμένου νερού άρδευσης και τη ρύπανση του εδάφους. Παρόλο που οι συγκεντρώσεις στα

φυτικά προϊόντα είναι συνήθως χαμηλότερες σε σύγκριση με τα ζωικά τρόφιμα, η συχνή κατανάλωση αυτών των προϊόντων μπορεί να συμβάλει σημαντικά στη συνολική ανθρώπινη έκθεση. Οι Domingo και Nadal (2017) υποστήριξαν ότι η διατροφή αποτελεί μία από τις σημαντικότερες οδούς πρόσληψης PFAS στον γενικό πληθυσμό και ότι η συμβολή κάθε κατηγορίας τροφίμων εξαρτάται από τις διατροφικές συνήθειες και τις τοπικές συνθήκες ρύπανσης. Ένας ακόμη σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την παρουσία PFAS στα τρόφιμα είναι τα υλικά συσκευασίας. Οι φθοριωμένες ενώσεις χρησιμοποιήθηκαν εκτεταμένα σε χαρτί και χαρτόνι συσκευασίας τροφίμων λόγω των λιποαπωθητικών και υδροαπωθητικών ιδιοτήτων τους. Στο παρελθόν ορισμένες συσκευασίες από χαρτί είχαν μια ειδική επίστρωση και αυτό περιείχε PFAS (Gorochategui et al., 2014). Οι Trier et al. (2011) ανέφεραν ότι PFAS μπορούν να μεταναστεύσουν από τα υλικά συσκευασίας στο τρόφιμο, ιδιαίτερα σε προϊόντα με υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος. Η πιθανότητα μετανάστευσης εξαρτάται από τη θερμοκρασία, τη διάρκεια αποθήκευσης και το είδος της τροφής (Schuanz et al., 2019; Yuan et al., 2022).

Η διατροφική έκθεση στα PFAS παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω των μεγάλων χρόνων ημιζωής αυτών των ενώσεων στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι PFAS μπορούν να παραμένουν στο αίμα και στους ιστούς για πολλά χρόνια, γεγονός που σημαίνει ότι ακόμη και χαμηλές καθημερινές προσλήψεις μπορούν να οδηγήσουν σε σταδιακή συσσώρευση. Οι Fromme et al. (2009) επισήμαναν ότι η χρόνια έκθεση μέσω τροφίμων αποτελεί βασικό παράγοντα αύξησης των συγκεντρώσεων PFAS στον ανθρώπινο οργανισμό, ιδιαίτερα σε πληθυσμούς που καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες τροφίμων ζωικής προέλευσης, άποψη που ενισχύεται από σύγχρονες μελέτες Total Diet Studies (TDS) παγκοσμίως (Eshcoot et al., 2022).

4.2 PFAS στο γάλα

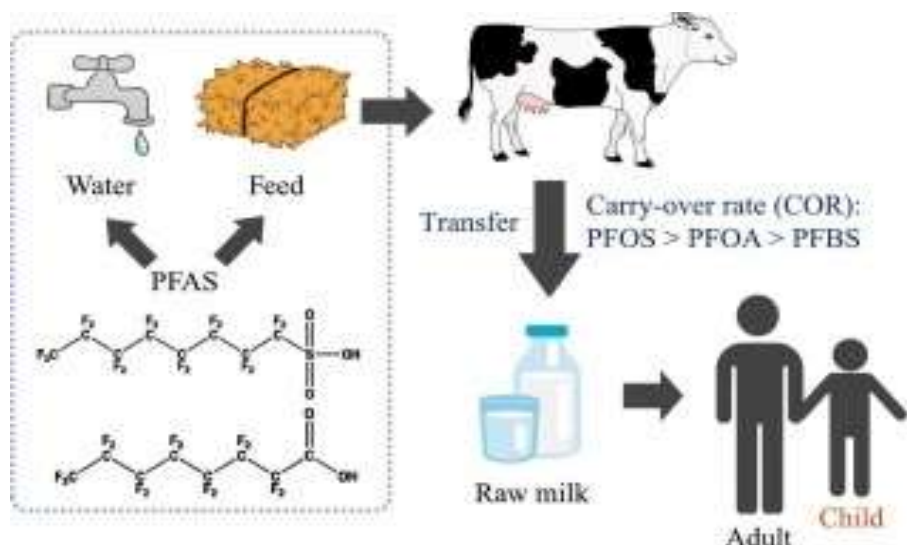
Το γάλα αποτελεί ένα από τα βασικότερα τρόφιμα ζωικής προέλευσης και σημαντικό στοιχείο της καθημερινής διατροφής. Η παρουσία PFAS στο γάλα έχει αποτελέσει αντικείμενο ιδιαίτερου επιστημονικού ενδιαφέροντος, καθώς το προϊόν αυτό καταναλώνεται συχνά από όλες τις ηλικιακές ομάδες και ιδιαίτερα από παιδιά και βρέφη (EFSA CONTAM Panel, 2020). Οι PFAS μπορούν να μεταφερθούν στο γάλα μέσω της κατανάλωσης μολυσμένων ζωοτροφών

και νερού από τα παραγωγικά ζώα, καθώς και μέσω της γενικότερης περιβαλλοντικής επιβάρυνσης της περιοχής εκτροφής.

Οι ενώσεις αυτές απορροφώνται από το γαστρεντερικό σύστημα των ζώων και μεταφέρονται μέσω του αίματος σε διάφορους ιστούς και όργανα. Μέρος των PFAS μπορεί να περάσει στους μαστικούς αδένες και να εκκριθεί στο γάλα (Kowalczyk et al., 2013). Σε αντίθεση με άλλους ανθεκτικούς οργανικούς ρύπους που συσσωρεύονται κυρίως στα λιπίδια, πολλές PFAS εμφανίζουν μεγαλύτερη συγγένεια με πρωτεΐνες του αίματος και της γαλακτικής μήτρας. Για τον λόγο αυτό, η παρουσία τους στο γάλα επηρεάζεται όχι μόνο από την περιεκτικότητα σε λίπος αλλά και από τη συγκέντρωση πρωτεϊνών και άλλων συστατικών. Οι Kärman et al. (2007) ανέφεραν την παρουσία PFAS σε ανθρώπινο γάλα στη Σουηδία και υποστήριξαν ότι οι ενώσεις αυτές μπορούν να μεταφέρονται αποτελεσματικά μέσω βιολογικών υγρών. Παρόλο που η συγκεκριμένη μελέτη αφορούσε ανθρώπινο γάλα, τα αποτελέσματά της ενίσχυσαν το ενδιαφέρον σχετικά με τη μεταφορά PFAS και στο αγελαδινό γάλα. Μετέπειτα έρευνες επιβεβαίωσαν ότι PFOS, PFOA και άλλες PFAS ενώσεις μπορούν να ανιχνευθούν σε αγελαδινό γάλα και σε γαλακτοκομικά προϊόντα. Οι Noorlander et al. (2011) μελέτησαν τα επίπεδα PFAS σε τρόφιμα στην Ολλανδία και διαπίστωσαν ότι το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα περιείχαν ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις PFOS και PFOA, κυρίως στο αγελαδινό γάλα όπου οι συγκεντρώσεις κυμαίνονταν κάτω από 1ng/g. Οι συγκεντρώσεις διαφοροποιούνταν σημαντικά ανάλογα με την περιοχή παραγωγής και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Οι περιοχές κοντά σε μολυσμένα υδάτινα συστήματα ή βιομηχανικές εγκαταστάσεις εμφάνιζαν αυξημένα επίπεδα PFAS. Επιπλέον οι μέσες συγκεντρώσεις που έχουν γίνει γνωστές στην Ευρώπη με βάση την γνωμοδότηση της EFSA το 2020 είναι μεταξύ 10ng/kg και 100ng/kg (0.01-0.1μg/kg). Επίσης, με βάση την δημοσίευση των Khanashyam (2025) ανέφεραν ότι στη Νορβηγία εντοπίστηκαν στο γάλα ενώσεις PFOS να κυμαίνονται από 0,003 και στην Κίνα έως 0,0245 ng/mL.

Η παρουσία PFAS στο αγελαδινό γάλα επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Η ποιότητα του νερού που καταναλώνουν τα ζώα, η σύσταση και η προέλευση των ζωοτροφών, η διάρκεια έκθεσης και η ηλικία των ζώων αποτελούν βασικούς παράγοντες που καθορίζουν τα επίπεδα PFAS (Su et al., 2022). Επιπλέον, η χημική δομή κάθε PFAS επηρεάζει τη βιοσυσσωρευση και τη μεταφορά της στο γάλα. Οι long-chain ενώσεις παρουσιάζουν συνήθως μεγαλύτερη βιοσυσσωρευση και μεγαλύτερους χρόνους παραμονής στον οργανισμό. Η διατροφική έκθεση

μέσω γάλακτος θεωρείται ιδιαίτερα σημαντική λόγω της συχνής κατανάλωσης του προϊόντος κυρίως μέσω της ένωσης PFOS (Kowalczyk et al.,2023). Οι Yamada et al. (2014) ανέφεραν ότι η κατανάλωση τροφίμων ζωικής προέλευσης, ιδιαίτερα ψαριών και γαλακτοκομικών προϊόντων από περιοχές με περιβαλλοντική επιβάρυνση, μπορεί να συμβάλει σημαντικά στη συνολική διατροφική έκθεση του ανθρώπου στα PFAS.



Σχήμα 13 : Διάγραμμα ροής της διατροφικής έκθεσης του ανθρώπου σε PFAS μέσω κατανάλωσης γάλακτος (Xiao et al., 2024)

Σημαντικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν και τα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με τις συγκεντρώσεις PFAS στο γάλα. Οι συγκεντρώσεις που αναφέρονται στις περισσότερες μελέτες είναι γενικά χαμηλές, συνήθως σε επίπεδα ng/L ή ng/kg, ωστόσο η χρόνια θκατανάλωση μπορεί να συμβάλει στη σταδιακή συσσώρευση των ενώσεων αυτών στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι διαφορετικές μελέτες εμφανίζουν σημαντικές διαφοροποιήσεις λόγω διαφορετικών αναλυτικών τεχνικών, διαφορετικών PFAS ενώσεων που εξετάζονται και διαφορετικών περιβαλλοντικών συνθηκών και την γεωγραφική θέση των δειγμάτων (van Asselt et al.,2024)

Οι Herzke et al. (2013) κατέγραψαν παρουσία PFAS σε τρόφιμα και καταναλωτικά προϊόντα στη Νορβηγία και υπογράμμισαν ότι τα επίπεδα στα γαλακτοκομικά προϊόντα επηρεάζονται άμεσα από την περιβαλλοντική έκθεση. Αντίστοιχα, άλλες ευρωπαϊκές μελέτες έχουν δείξει

ότι οι συγκεντρώσεις PFOS και PFOA στο γάλα είναι υψηλότερες σε περιοχές κοντά σε βιομηχανικές δραστηριότητες ή μολυσμένες πηγές νερού.

Σχήμα 14: Το παρακάτω σχήμα προέρχεται από έρευνα στις ΗΠΑ (Hill et al., 2021) σε 13 διαφορετικά αγροκτήματα .



4.3 PFAS σε τυρί και γιαούρτι

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως το τυρί και το γιαούρτι, αποτελούν σημαντικό μέρος της ανθρώπινης διατροφής και έχουν προσελκύσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως προς την παρουσία PFAS (Khanashyam et al., 2025). Οι ενώσεις αυτές μπορούν να μεταφερθούν στα προϊόντα μέσω του γάλακτος που χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη, ενώ η διαφορετική σύσταση και οι τεχνολογικές διεργασίες παραγωγής επηρεάζουν σημαντικά τη συμπεριφορά και την κατανομή τους .

Το τυρί και το γιαούρτι παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς την περιεκτικότητα σε λίπος, πρωτεΐνες και υγρασία. Οι διαφορές αυτές επηρεάζουν την κατανομή των PFAS μέσα στη γαλακτική μήτρα (EFSA Contam Panel 2020; Dimitrakopoulou et al., 2024) . Οι κύριες χημικές ουσίες που βρίσκονται στα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι τα PFOS, τα PFOA, τα PFHxS, τα PFNA, και τα PFDA. Σε ορισμένες περιπτώσεις έχουν βρεθεί και άλλες χημικές ενώσεις μακρύτερης αλυσίδας όπως τα PFUnDA, PFDoDA (Dimitrakopoulou et al., 2024) Σε αντίθεση με πολλούς ανθεκτικούς οργανικούς ρύπους που εμφανίζουν έντονη λιποφιλία, οι

PFAS συνδέονται συχνά με πρωτεΐνες. Για τον λόγο αυτό, η παρουσία τους στα γαλακτοκομικά προϊόντα δεν εξαρτάται αποκλειστικά από την περιεκτικότητα σε λίπος. Οι Tittlemier et al. (2007) μελέτησαν την παρουσία PFAS σε σύνθετα δείγματα τροφίμων στον Καναδά και ανέφεραν ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις σε διάφορα γαλακτοκομικά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων τυριών. Οι συγκεντρώσεις διέφεραν σημαντικά μεταξύ προϊόντων, γεγονός που αποδόθηκε στις διαφορές της σύστασης και της προέλευσης των πρώτων υλών.

Σύμφωνα με την έρευνα των Bonato et al., 2025, με προϊόν ανάλυσης τα τυριά, η ένωση που ανιχνεύθηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση ήταν τα PFOS με συγκέντρωση 5-6 ng/g, ενώ οι PFHxS, PFNA, PFDA ανιχνεύθηκαν περίπου 0,5ng/g. Στην ίδια έρευνα με προϊόν ανάλυσης το γιαούρτι ανιχνεύθηκαν PFOS και PFOA χωρίς να υπάρχουν αρκετά δεδομένα και με συγκέντρωση να είναι λιγότερη από 0,5ng/g. Επίσης με βάση την δημοσίευση των Khanashyam το 2025, ανέφεραν πως το τυρί και το βούτυρο εξαιτίας της σύνθετης γαλακτοκομικής μήτρας επέδειξαν συγκεντρώσεις PFAS έως και 13,34 ng/mL. Τα αποτελέσματα αυτά επηρεάζονται και από τα υλικά συσκευασίας όπως το χαρτί βουτύρου, όπου συχνά περιέχουν φθοριωμένες ενώσεις για να ενισχύσουν την αντοχή στο λίπος και στο νερό (Still et al., 2013; Zafeiraki et al., 2014).

Το γιαούρτι αποτελεί επίσης σημαντικό γαλακτοκομικό προϊόν ως προς τη μελέτη των PFAS. Η διαδικασία ζύμωσης και η διαφορετική μικροδομή του προϊόντος μπορούν να επηρεάζουν τη συμπεριφορά των PFAS στη γαλακτική μήτρα (Gao et al., 2022). Παρόλο που τα διαθέσιμα δεδομένα για το γιαούρτι παραμένουν περιορισμένα, οι υπάρχουσες μελέτες δείχνουν ότι PFAS μπορούν να ανιχνευθούν σε διάφορους τύπους προϊόντων. Η περιεκτικότητα σε λίπος αποτελεί σημαντικό παράγοντα που μπορεί να επηρεάζει τη συγκέντρωση ορισμένων PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Προϊόντα με υψηλότερη περιεκτικότητα σε λιπαρά ενδέχεται να εμφανίζουν διαφορετική κατανομή PFAS σε σχέση με προϊόντα χαμηλών λιπαρών. Παρόλα αυτά, λόγω της έντονης πρωτεϊνικής δέσμευσης πολλών PFAS, η σχέση μεταξύ λίπους και συγκέντρωσης PFAS δεν είναι πάντα γραμμική. Σύμφωνα με μια έρευνα των Katarzynska (2019) στην Πολωνία, εντόπισαν στο φυσικό γιαούρτι συγκεντρώσεις από PFBA από 0,37 έως 2,56 ng/mL και ενώσεις PFOA με 0,14 έως 0,20 ng/mL. Επίσης με βάση την μελέτη των Xing (2016), εντόπισαν στο γιαούρτι ενώσεις όπως PFOS και PFOA με συγκεντρώσεις 0,0318 και 0,0226 ng/mL αντίστοιχα.

Οι διαφορετικές τεχνολογικές διεργασίες παραγωγής επηρεάζουν επίσης τη συμπεριφορά των PFAS. Η παστερίωση, η ωρίμανση, η ζύμωση και η συμπύκνωση στερεών συστατικών μπορούν να μεταβάλλουν την κατανομή των ενώσεων αυτών στο προϊόν αντίθετα τις ενσωματώνουν στις πρωτεΐνες του γάλακτος μέσω της θερμικής μετουσίωσης (Eshcoot et al.,2022). Εξίσου, οι διαφορετικές πρώτες ύλες και η περιβαλλοντική έκθεση των παραγωγικών ζώων οδηγούν σε σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ χωρών και περιοχών (Khanashyam et al.,2025). Οι Ericson Jogsten et al. (2012) ανέφεραν ότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα συμβάλλουν σε μικρότερο βαθμό στη συνολική έκθεση σε PFAS σε σύγκριση με τα ψάρια και τα θαλασσινά, ωστόσο η συχνή κατανάλωσή τους αυξάνει τη σημασία τους στο πλαίσιο της ασφάλειας τροφίμων. Ιδιαίτερα σε πληθυσμούς με υψηλή κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων, ακόμη και χαμηλές συγκεντρώσεις μπορούν να συμβάλουν στη χρόνια πρόσληψη PFAS.

5. Τοξικολογία και Κανονιστικό Πλαίσιο

Οι τοξικολογικές επιπτώσεις των PFAS έχουν μελετηθεί εκτενώς τις τελευταίες δεκαετίες. Πειραματικές και επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι ορισμένες PFAS ενώσεις μπορούν να επηρεάσουν το ήπαρ, το ενδοκρινικό σύστημα, το ανοσοποιητικό σύστημα και τον μεταβολισμό των λιπιδίων. Οι Fromme et al. (2009) ανέφεραν ότι η χρόνια έκθεση στα PFAS σχετίζεται με αυξημένες συγκεντρώσεις αυτών των ενώσεων στο αίμα και στους ιστούς του ανθρώπου, γεγονός που αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης ανεπιθύμητων επιδράσεων στην υγεία. Επιπλέον, αρκετές μελέτες έχουν συσχετίσει την έκθεση στα PFAS με αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης, διαταραχές της λειτουργίας του θυρεοειδούς και μεταβολικές διαταραχές (Sunderland et al.,2019).

Ιδιαίτερη ανησυχία προκαλεί η επίδραση των PFAS στο ανοσοποιητικό σύστημα. Ορισμένες ενώσεις έχουν συσχετιστεί με μειωμένη ανοσολογική απόκριση και μικρότερη αποτελεσματικότητα των εμβολίων, ιδιαίτερα στα παιδιά (EFSA 2020). Συμπληρωματικά, οι PFAS μπορούν να επηρεάσουν την αναπαραγωγική λειτουργία και την ανάπτυξη του οργανισμού. Οι Kärman et al. (2007) κατέγραψαν παρουσία PFAS σε μητρικό γάλα και ορό

αίματος, επιβεβαιώνοντας ότι οι ενώσεις αυτές μπορούν να μεταφερθούν από τη μητέρα στο βρέφος μέσω του θηλασμού. Το γεγονός αυτό αυξάνει την ανησυχία σχετικά με την έκθεση κατά την πρώιμη παιδική ηλικία, καθώς ο αναπτυσσόμενος οργανισμός είναι περισσότερο ευάλωτος στις τοξικολογικές επιδράσεις.

Η κύρια οδός έκθεσης του γενικού πληθυσμού στα PFAS είναι η διατροφή. Η κατανάλωση τροφίμων και νερού που περιέχουν PFAS μπορεί να οδηγήσει σε σταδιακή συσσώρευση των ενώσεων αυτών στον οργανισμό. Οι Domingo και Nadal (2017) τόνισαν ότι τρόφιμα ζωικής προέλευσης, όπως τα ψάρια, το κρέας και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, αποτελούν σημαντικές πηγές διατροφικής έκθεσης. Η χρόνια πρόσληψη ακόμη και χαμηλών συγκεντρώσεων θεωρείται σημαντική, καθώς πολλές PFAS εμφανίζουν μεγάλους χρόνους ημιζωής στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι PFAS προκαλούν σημαντικές επιπτώσεις και στα οικοσυστήματα. Οι ενώσεις αυτές έχουν ανιχνευθεί σε υδρόβιους και χερσαίους οργανισμούς σε παγκόσμια κλίμακα, ακόμη και σε απομακρυσμένες περιοχές χωρίς άμεσες πηγές ρύπανσης. Οι Yamada et al. (2014) ανίχνευσαν PFAS σε ψάρια γλυκού και θαλάσσιου νερού στη Γαλλία, επιβεβαιώνοντας ότι οι ενώσεις αυτές μπορούν να μεταφέρονται και να συσσωρεύονται σε υδρόβιους οργανισμούς. Η παρουσία τους στους οργανισμούς επηρεάζει τη βιοποικιλότητα και τη λειτουργία των οικοσυστημάτων, ενώ παράλληλα συμβάλλει στη μεταφορά τους στην τροφική αλυσίδα.

Η βιοσυσσώρευση αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό πολλών PFAS, ιδιαίτερα των long-chain ενώσεων όπως το PFOS και το PFOA (Conder et al., 2008). Καθώς οι PFCA, μακράς αλυσίδας προτάθηκαν επίσης στην καταχώρηση στην Έκθεση της Σύμβασης της Στοκχόλμης. Οι ενώσεις αυτές συσσωρεύονται σταδιακά στους οργανισμούς λόγω της συνεχούς έκθεσης και της περιορισμένης δυνατότητας αποβολής τους. Η βιοσυσσώρευση οδηγεί συχνά και σε βιομεγέθυνση κατά μήκος της τροφικής αλυσίδας, με αποτέλεσμα υψηλότερες συγκεντρώσεις να εμφανίζονται σε οργανισμούς ανώτερων τροφικών επιπέδων.

Σε ευρωπαϊκό επίπεδο, το κανονιστικό πλαίσιο για τις PFAS βασίζεται κυρίως στον κανονισμό REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals), ο οποίος ρυθμίζει την καταγραφή, αξιολόγηση και περιορισμό χημικών ουσιών στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Μέσω του REACH έχουν επιβληθεί περιορισμοί στη χρήση συγκεκριμένων PFAS ενώσεων, ιδιαίτερα του PFOS και του PFOA, λόγω της τοξικότητας και της περιβαλλοντικής

επιμονής τους. Το PFOS περιορίστηκε αρχικά με την Οδηγία 2006/122/EC και στη συνέχεια εντάχθηκε στον κανονισμό REACH (European Parliament 2006) , ενώ το PFOA περιορίστηκε με τον Κανονισμό (ΕΕ) 2017/1000 (European Commission, 2017).

Η αυξανόμενη ανησυχία σχετικά με τις τοξικολογικές επιπτώσεις των PFAS οδήγησε την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) στην αξιολόγηση της διατροφικής έκθεσης και στον καθορισμό ορίων ασφαλείας. Το 2020, η EFSA καθόρισε ανεκτή εβδομαδιαία πρόσληψη (Tolerable Weekly Intake, TWI) ίση με 4,4 ng/kg σωματικού βάρους ανά εβδομάδα για το άθροισμα τεσσάρων σημαντικών PFAS ενώσεων: PFOS, PFOA, PFNA και PFHxS (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, 2020). Το όριο αυτό βασίστηκε κυρίως στις επιδράσεις των PFAS στο ανοσοποιητικό σύστημα και θεωρείται ιδιαίτερα αυστηρό λόγω της χρόνιας φύσης της έκθεσης.

Περαιτέρω, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η Σύμβαση της Στοκχόλμης για τους Έμμονους Οργανικούς Ρύπους (Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants). Το PFOS εντάχθηκε στη Σύμβαση το 2009, το PFOA το 2019 και το PFHxS το 2022 , εντάχθηκαν επίσης τα άλατα των ενώσεων αυτών και οι σχετικές ενώσεις . γεγονός που υποχρεώνει τα συμβαλλόμενα κράτη να περιορίσουν ή να εξαλείψουν την παραγωγή και χρήση τους.(UNEP/POPS/COP. Έκθεση της Διάσκεψης των Μερών της Σύμβασης της Στοκχόλμης για τους Οργανικούς Ρύπους . σχετικά με τις εργασίες της δέκατης συνδεδρίαση της 2021)

Συνακόλουθα, η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θεσπίσει όρια για PFAS στο πόσιμο νερό μέσω της Οδηγίας (ΕΕ) 2020/2184, σύμφωνα με την οποία το άθροισμα συγκεκριμένων PFAS στο νερό ανθρώπινης κατανάλωσης δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0,1 µg/L. Το γάλα αποτελεί και αυτό ένα από τους σημαντικούς λόγους έκθεσης του ανθρώπου στις ενώσεις αυτές . Αρκετές έρευνες έδειξαν ότι η κατανάλωση γάλακτος αποτελεί περίπου το 25% της πρόσληψης PFOS.(Noorlander et al., 2011)

Τα τελευταία χρόνια, η Ευρωπαϊκή Ένωση ενισχύει συνεχώς τα προγράμματα παρακολούθησης PFAS σε τρόφιμα, νερό και περιβαλλοντικά δείγματα. Επιπρόσθετα, εξετάζονται νέοι περιορισμοί για ολόκληρες ομάδες PFAS, καθώς υπάρχουν χιλιάδες διαφορετικές ενώσεις που δεν έχουν ακόμη πλήρως αξιολογηθεί ως προς την τοξικότητα και τη συμπεριφορά τους στο περιβάλλον. Για τον λόγο αυτό, η συνεχής επιστημονική έρευνα και

η ανάπτυξη αυστηρότερων κανονιστικών μέτρων θεωρούνται απαραίτητες για την προστασία της δημόσιας υγείας και του περιβάλλοντος.

6. Αναλυτικές Μέθοδοι Προσδιορισμού PFAS στα Γαλακτοκομικά Προϊόντα

6.1 Γενικές αρχές ανάλυσης PFAS

Η ανάλυση των υπερφθοριωμένων και πολυφθοριωμένων αλκυλιωμένων ενώσεων (PFAS) αποτελεί μία ιδιαίτερα απαιτητική διαδικασία λόγω των φυσικοχημικών ιδιοτήτων αυτών των ενώσεων, της μεγάλης ποικιλίας τους και των εξαιρετικά χαμηλών συγκεντρώσεων στις οποίες ανιχνεύονται συνήθως στα τρόφιμα και ειδικότερα στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Οι PFAS περιλαμβάνουν χιλιάδες διαφορετικές ενώσεις με διαφορετική πολικότητα, μήκος ανθρακικής αλυσίδας και λειτουργικές ομάδες, γεγονός που δυσκολεύει σημαντικά την ανάπτυξη ενιαίων αναλυτικών πρωτοκόλλων. Ακόμη, οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν υψηλή χημική σταθερότητα και επιφανειοδραστική συμπεριφορά, χαρακτηριστικά που επηρεάζουν τόσο την προετοιμασία των δειγμάτων όσο και τη χρωματογραφική και φασματομετρική τους ανάλυση.

Η ανάλυση PFAS πραγματοποιείται συνήθως σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, συχνά σε επίπεδα ng/L ή ng/kg. Για τον λόγο αυτό απαιτούνται ιδιαίτερα ευαίσθητες τεχνικές, κυρίως υγρή χρωματογραφία συνδεδεμένη με φασματομετρία μάζας tandem (LC-MS/MS). Οι Hill et al. (2022) ανέπτυξαν ευαίσθητη μέθοδο LC-MS/MS για την ανίχνευση legacy και emerging PFAS σε γάλα, επιτυγχάνοντας χαμηλά όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης για μεγάλο αριθμό ενώσεων. Η ανάγκη ανίχνευσης τόσο χαμηλών συγκεντρώσεων αυξάνει σημαντικά τις απαιτήσεις για ακρίβεια, καθαρότητα αντιδραστηρίων και έλεγχο επιμόλυνσης.

Η επιμόλυνση (contamination) αποτελεί μία από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στην ανάλυση PFAS. Οι ενώσεις αυτές χρησιμοποιούνται ευρέως σε εργαστηριακά υλικά και εξοπλισμό, όπως σωληνάρια, φίλτρα, σφραγίδες και επιφάνειες που περιέχουν φθοριωμένα πολυμερή. Εξαιτίας αυτού, ακόμη και μικρές ποσότητες PFAS από το εργαστηριακό περιβάλλον μπορούν να οδηγήσουν σε ψευδώς αυξημένα αποτελέσματα. Οι Koch et al. (2020) υποστήριξαν ότι η

αποφυγή υλικών PTFE και η χρήση τυφλών δειγμάτων (procedural blanks) αποτελούν βασικές προϋποθέσεις για αξιόπιστη ανάλυση PFAS. Για τον περιορισμό της επιμόλυνσης χρησιμοποιούνται συνήθως πολυπροπυλενικά ή γυάλινα σκεύη και διαλύτες υψηλής καθαρότητας. Σημαντικό πρόβλημα αποτελεί επίσης το background fluorine, δηλαδή η παρουσία οργανικού ή ανόργανου φθορίου στο περιβάλλον, στους διαλύτες ή στον αναλυτικό εξοπλισμό. Η παρουσία background fluorine επηρεάζει ιδιαίτερα τις μεθόδους συνολικού οργανικού φθορίου, όπως το Extractable Organic Fluorine (EOF) και το Combustion Ion Chromatography (CIC). Οι McDonough et al. (2019) ανέφεραν ότι μεγάλο ποσοστό του συνολικού οργανικού φθορίου σε πολλά δείγματα δεν μπορεί να αποδοθεί στις γνωστές PFAS ενώσεις που ανιχνεύονται με target analysis, γεγονός που υποδεικνύει την παρουσία άγνωστων ή μη στοχευμένων φθοριωμένων ενώσεων.

Ένα ακόμη σημαντικό πρόβλημα κατά την ανάλυση PFAS είναι οι απώλειες λόγω προσρόφησης (adsorption losses). Οι PFAS έχουν την ικανότητα να προσροφώνται σε γυάλινες ή πολυμερικές επιφάνειες, προκαλώντας απώλειες κατά τη μεταφορά και επεξεργασία των δειγμάτων. Οι απώλειες αυτές είναι ιδιαίτερα σημαντικές στις αναλύσεις πολύ χαμηλών συγκεντρώσεων και μπορούν να οδηγήσουν σε υποεκτίμηση των πραγματικών επιπέδων PFAS. Οι Aro et al. (2021) ανέφεραν ότι οι ιδιότητες των επιφανειών και η επιλογή των κατάλληλων υλικών επηρεάζουν σημαντικά την ανάκτηση των αναλυτών.

Η πολυπλοκότητα της ανάλυσης PFAS αυξάνεται περαιτέρω λόγω της ύπαρξης χιλιάδων διαφορετικών ενώσεων, πολλές από τις οποίες δεν είναι ακόμη διαθέσιμες ως πρότυπα αναφοράς. Οι συμβατικές target ανάλυσης μέθοδοι, επιτρέπουν την ανίχνευση μόνο γνωστών PFAS, ενώ οι non-target και suspect screening τεχνικές υψηλής διακριτικής ικανότητας, όπως Orbitrap και TOF-MS, επιτρέπουν την ανίχνευση άγνωστων ή emerging PFAS. Οι Miaz et al. (2020) έδειξαν ότι οι τεχνικές suspect screening σε συνδυασμό με τον προσδιορισμό συνολικού οργανικού φθορίου μπορούν να αποκαλύψουν την παρουσία σημαντικού αριθμού μη ταυτοποιημένων φθοριωμένων ενώσεων.

6.2 Προετοιμασία Δειγμάτων (Sample Preparation)

6.2.1 Εκχύλιση (Extraction Techniques)

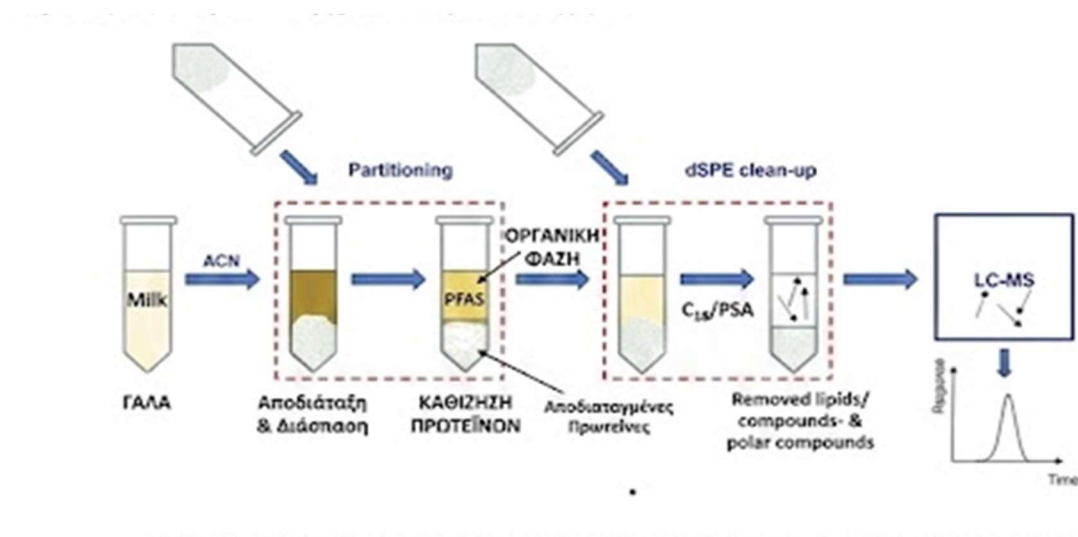
Η προετοιμασία των δειγμάτων αποτελεί κρίσιμο στάδιο στην ανάλυση PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα, καθώς επηρεάζει άμεσα την ανάκτηση, την ευαισθησία και την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων (Jian et al., 2017). Τα γαλακτοκομικά προϊόντα χαρακτηρίζονται από πολύπλοκη σύσταση λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε πρωτεΐνες όπως είναι οι καζεΐνες, λίπη, τριγλυκερίδια και σάκχαρα (λακτόζη), άλλα οργανικά συστατικά, γεγονός που δυσκολεύει σημαντικά την απομόνωση των PFAS. Για αυτό το λόγο αποτελεί σημαντικό το στάδιο της εκχύλισης. Παράλληλα, εξαιτίας της πολυπλοκότητας της μήτρας και της ισχυρής συγγένειας των PFAS με τις πρωτεΐνες των γαλακτοκομικών προϊόντων, η απλή εκχύλιση δεν συμβάλλει αποτελεσματικά με την χρήση μόνο οργανικών διαλυτών και απαιτείται ένας συνδυασμός τεχνικών.

- QuEChERS (Quick , Easy , Cheap , Effective , Rugged)

Η τεχνική αυτή διαμορφώθηκε το 2003, από τους Anastasiades και Lehotay, κυρίως για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων και φυτοφαρμάκων, αλλά παρατηρήθηκε τα τελευταία χρόνια, ότι μπορεί να εφαρμοστεί για την ανάλυση ιχνών PFAS σε σύνθετες ζωικές μήτρες όπως είναι τα γαλακτοκομικά προϊόντα (Barbieri et al., 2021; Perkons et al., 2019). Η μέθοδος αυτή αποτελεί μια απλοϊκή τεχνική των παραδοσιακών τεχνικών εκχύλισης υγρού – υγρού (LLE) και στερεάς – υγρού (SLE) συμβάλλοντας στην μείωση του χρόνου που απαιτείται για την διαδικασία αλλά και του κόστους ανά δείγμα, με την χρήση απλών φυγοκεντρικών σωλήνων πολυπροπυλενίου (PP) (Munoz et al., 2017).

Η μέθοδος QuEChERS, συμβάλλει στην εξαγωγή PFAS από τα γαλακτοκομικά προϊόντα όπως το γάλα, το γιαούρτι και το τυρί ακολουθώντας κάποιες συγκεκριμένες χημικές διεργασίες. Αρχικά σημαντικό βήμα αποτελεί η αποδιάταξη των πρωτεϊνικών δεσμών. Τα PFAS και συγκεκριμένα εκείνα που ανήκουν στην μακρά αλυσίδα (long - chain) όπως τα PFOS και PFOA, τα οποία έχουν την τάση να προσκολλώνται σε πρωτεΐνες γάλακτος όπως η αλβουμίνη ορού, σύμφωνα με μια μελέτη των Förster et al., 2020). Η προσθήκη

ακετονιτριλίου μαζί με 1 % v/v μυρμηκικό οξύ (HCOOH), μειώνει το pH κάτω από το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών . Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη λεγόμενη καθίζηση και την διάσπαση των ηλεκτροστατικών δεσμών , επιτρέποντας στα PFAS να μετακινούνται με ευκολία στην οργανική φάση . (Barbieri et al., 2021). Στη συνέχεια ακολουθεί το salting out η αλλιώς εκκλεκτικός διαχωρισμός φάσεων . Ο διαχωρισμός αυτός πραγματοποιείται με τη χρήση ενός μίγματος αλάτων , συνήθως άνυδρο θειικό μαγνήσιο (MgSO_4) και χλωριούχο νάτριο (NaCl) , όπου διασπών το σύστημα σε δύο μέρη με τα PFAS να βρίσκονται στο ανώτερο οργανικό στρώμα (Su et al ., 2022) . Το άνυδρο θειικό μαγνήσιο , δεσμεύει εξώθερμα το νερό και το χλωριούχο νάτριο αυξάνει την ιοντική ισχύ του υδατικού διαλύματος . Τέλος , ακολουθεί καθαρισμός d-SPE (Dispersive solid- phase extraction) όπου η προκείμευση οργανική φάση εξακολουθεί να περιέχει σημαντικές ποσότητες συνεκχυλισμένων λιπιδίων . Έτσι με την μέθοδο QuEChERS κάνουμε χρήση σκόνης προσροφητικών υλικών (C_{18} και PSA) κατευθείαν μέσα στον σωλήνα , αντί για τις κλασσικές μεθόδους με στήλη SPE. Η C_{18} δεσμεύει τα τριγλυκερίδια και τα λιπαρά οξέα του γάλακτος , μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων , ενώ το PSA απομακρύνει πολικές παρεμβολές όπως η λακτόζη (Liorca et al., 2012 ; Nika et al.,2020).



Σχήμα 14: Αναπαράσταση της μεθόδου QuEChERS (Godfrey, et al., 2020)

Η solid-liquid extraction χρησιμοποιείται κυρίως για στερεά ή ημιστερεά δείγματα, όπως τυρί και γιαούρτι. Η τεχνική βασίζεται στην εκχύλιση των PFAS από το δείγμα με οργανικούς διαλύτες όπως μεθανόλη και ασενοτρολική (MeOH , methanol και acetonitrile ACN). Οι Hill

et al. (2022) χρησιμοποίησαν εκχύλιση με μεθανόλη για την ανάλυση PFAS σε γάλα, επιτυγχάνοντας υψηλές ανακτήσεις και χαμηλά όρια ανίχνευσης. Η χρήση πολικών οργανικών διαλυτών επιτρέπει αποτελεσματική εκχύλιση τόσο long-chain όσο και short-chain PFAS ενώσεων.

- Liquid-Liquid Extraction

Η liquid-liquid extraction εφαρμόζεται κυρίως σε υγρά δείγματα όπως το γάλα. Η μέθοδος βασίζεται στην κατανομή των PFAS μεταξύ υδατικής και οργανικής φάσης. Όμως, η παρουσία λιπαρών και πρωτεϊνών στο γάλα μπορεί να προκαλέσει γαλακτωματοποίηση και να μειώσει την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης. Για τον λόγο αυτό, η liquid-liquid extraction συνδυάζεται συχνά με πρόσθετα στάδια καθαρισμού και απολίπανσης.

- Solid Phase Extraction (SPE)

Η Solid Phase Extraction (SPE) αποτελεί μία από τις πιο διαδεδομένες τεχνικές προσυγκέντρωσης και καθαρισμού PFAS. Η τεχνική βασίζεται στη συγκράτηση των PFAS σε ειδικές στερεές φάσεις και στην απομάκρυνση παρεμβολών του matrix. Οι Shi et al. (2023) χρησιμοποίησαν SPE σε συνδυασμό με QuEChERS και LC-MS/MS για την ανάλυση PFAS σε γάλα, επιτυγχάνοντας σημαντική μείωση των matrix effects. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες SPE φάσεις είναι οι weak anion exchange (WAX) και hydrophilic-lipophilic balance (HLB), οι οποίες επιτρέπουν αποτελεσματική συγκράτηση μεγάλου εύρους PFAS ενώσεων.

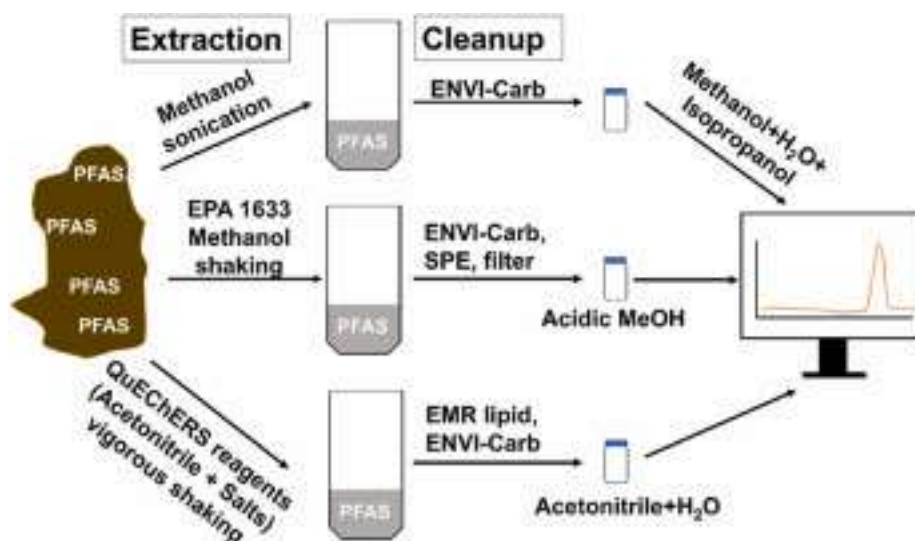


Σχήμα 15: Αναπαράσταση των σταδίων της εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE) : Πρώτα γίνεται η ενεργοποίηση (Loading), ύστερα φόρτωση δείγματος (Conditioning), Πλύση (Washing) και Έκλυση (Elution) (Wikimedia Commons, Άδεια χρήσης CC BY -SA)

6.2.2 Καθαρισμός δείγματος (Cleanup)

Ο καθαρισμός του δείγματος αποτελεί απαραίτητο στάδιο πριν από τη χρωματογραφική ανάλυση, καθώς τα γαλακτοκομικά προϊόντα περιέχουν συστατικά που μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές παρεμβολές στη φασματομετρία μάζας. Οι cleanup strategies στοχεύουν στην απομάκρυνση πρωτεϊνών, λιπαρών και άλλων οργανικών ενώσεων που επηρεάζουν την ιοντοποίηση των PFAS. Η protein precipitation χρησιμοποιείται ευρέως για την απομάκρυνση πρωτεϊνών από το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Η διαδικασία πραγματοποιείται συνήθως με προσθήκη acetonitrile ή methanol, που προκαλούν καθίζηση των πρωτεϊνών και επιτρέπουν την παραμονή των PFAS στο υπερκείμενο διάλυμα. Η χρήση αυτών των διαλυτών βελτιώνει σημαντικά την καθαρότητα του δείγματος και μειώνει τις παρεμβολές κατά την ανάλυση.

Οι διαδικασίες απολίπανσης (defatting) είναι ιδιαίτερα σημαντικές για προϊόντα υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος, όπως το πλήρες γάλα και τα τυριά. Τα λιπαρά μπορούν να προκαλέσουν matrix suppression κατά τη φασματομετρία μάζας και να μειώσουν σημαντικά την ευαισθησία της μεθόδου. Για τον λόγο αυτό χρησιμοποιούνται μη πολικοί διαλύτες, όπως το εξάνιο, για την απομάκρυνση των λιπιδίων πριν από την τελική ανάλυση. Οι Sun et al. (2020) ανέφεραν ότι η αποτελεσματική απολίπανση είναι απαραίτητη για τη βελτίωση της αναλυτικής απόδοσης στις αναλύσεις PFAS σε γαλακτοκομικά προϊόντα.



Σχήμα 16 : Σχηματική απεικόνιση από τα στάδια της εκχύλισης , τον κατάλληλο καθαρισμό της μήτρας μέχρι την τελική ανάλυση (Rose Alukkal et al., 2025 ,Open Access CC BY-NC-ND 4.0)

6.2.3 Ιδιαιτερότητες γαλακτοκομικών matrix

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούν ιδιαίτερα απαιτητικές μήτρες λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε λίπη και πρωτεΐνες. Τα συστατικά αυτά μπορούν να προκαλέσουν έντονα παρεμποδίσεις κατά την ιοντοποίηση στη φασματομετρία μάζας, οδηγώντας είτε σε καταστολή είτε σε ενίσχυση του σήματος των PFAS. Οι παρεμποδίσεις αποτελούν μία από τις σημαντικότερες πηγές σφάλματος στην ποσοτικοποίηση των PFAS και καθιστούν απαραίτητη τη χρήση isotope-labelled internal standards. Η υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά προκαλεί σημαντικές παρεμβολές κατά την ανάλυση και αυξάνει την ανάγκη απολίπανσης του δείγματος. Είναι επίσης αξιοσημείωτο πως, οι πρωτεΐνες του γάλακτος μπορούν να δεσμεύουν PFAS και να επηρεάζουν την ανάκτησή τους κατά την εκχύλιση. Για τον λόγο αυτό χρησιμοποιούνται συχνά συνδυασμοί μεθανόλης και ακετονιτρίλιο, οι οποίοι επιτρέπουν ταυτόχρονα εκχύλιση των PFAS και καθίζηση των πρωτεϊνών.

Τα τελευταία χρόνια, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η εφαρμογή της προσέγγισης QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe). Η μέθοδος αυτή βασίζεται σε εκχύλιση με ακετονιτρίλιο και χρήση αλάτων για διαχωρισμό φάσεων και καθαρισμού του δείγματος. Οι Yu et al. (2015) ανέφεραν ότι η προσέγγιση QuEChERS σε συνδυασμό με LC-

MS/MS επιτρέπει ταχεία και αποτελεσματική ανάλυση πολλαπλών PFAS σε δείγματα γάλακτος με χαμηλά όρια ανίχνευσης και ικανοποιητικές ανακτήσεις. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ολοένα και περισσότερο λόγω της ταχύτητας, της απλότητας και της μειωμένης κατανάλωσης διαλυτών.

6.3 Target Analysis

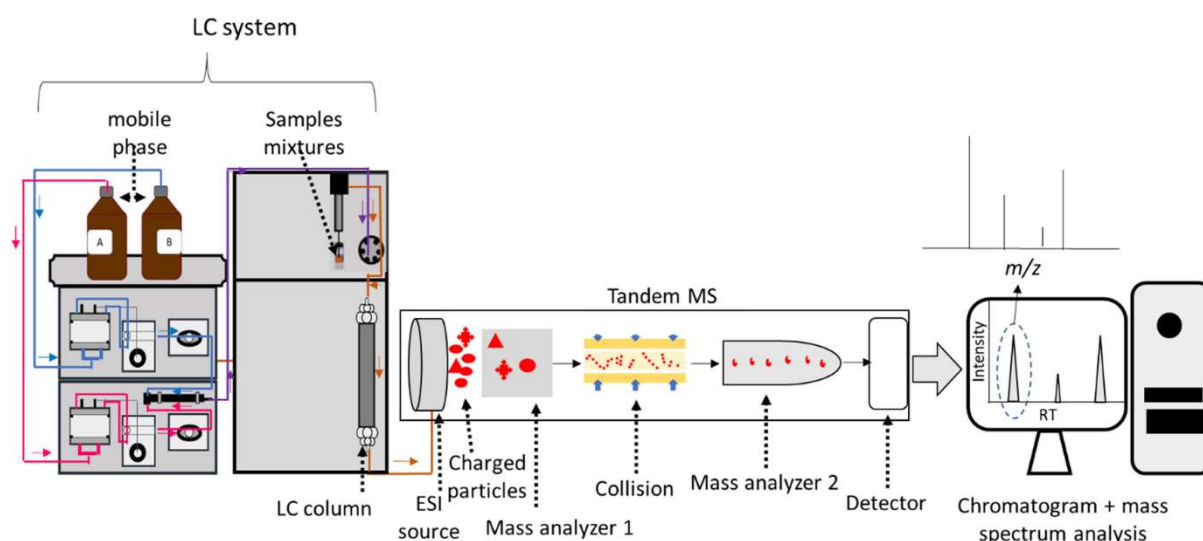
6.3.1 LC-MS/MS (Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry)

Η υγρή χρωματογραφία συνδεδεμένη με φασματομετρία μάζας tandem (LC-MS/MS) αποτελεί σήμερα τη βασικότερη και πιο διαδεδομένη τεχνική για τον προσδιορισμό PFAS σε τρόφιμα και ιδιαίτερα σε γαλακτοκομικά προϊόντα. Η τεχνική αυτή συνδυάζει τον χρωματογραφικό διαχωρισμό των ενώσεων με την εξαιρετικά ευαίσθητη και επιλεκτική ανίχνευση μέσω φασματομετρίας μάζας. Η LC-MS/MS χρησιμοποιείται κυρίως για τον στοχευμένο προσδιορισμό, δηλαδή για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση γνωστών PFAS ενώσεων για τις οποίες υπάρχουν διαθέσιμα πρότυπα αναφοράς.

Η αρχή λειτουργίας της τεχνικής βασίζεται αρχικά στον διαχωρισμό των PFAS μέσω υγρής χρωματογραφίας. Το δείγμα εισάγεται στη χρωματογραφική στήλη, όπου οι ενώσεις διαχωρίζονται ανάλογα με την πολικότητα και τις αλληλεπιδράσεις τους με τη στατική και την κινητή φάση. Στην ανάλυση PFAS χρησιμοποιούνται συνήθως reversed-phase στήλες C18 και κινητές φάσεις που περιέχουν μεθανόλη ή acetonitrile σε συνδυασμό με υδατικά διαλύματα οξικού ή φορμικού αμμωνίου. Ο σωστός χρωματογραφικός διαχωρισμός είναι ιδιαίτερα σημαντικός, καθώς πολλές PFAS ενώσεις εμφανίζουν παρόμοια δομή και παρόμοιους χρόνους κατακράτησης. Μετά τον χρωματογραφικό διαχωρισμό, οι ενώσεις εισέρχονται στον φασματογράφο μάζας όπου πραγματοποιείται ιοντοποίηση. Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη τεχνική ιοντοποίησης για PFAS είναι η electrospray ionization (ESI), κυρίως σε αρνητικό mode λόγω της όξινης φύσης πολλών PFAS ενώσεων. Η ESI επιτρέπει τη μετατροπή των μορίων σε ιόντα χωρίς σημαντική αποικοδόμηση και θεωρείται ιδιαίτερα κατάλληλη για πολικές και θερμικά ασταθείς ενώσεις όπως οι PFAS. Οι Hill et al. (2022) ανέφεραν ότι η χρήση ESI σε

συνδυασμό με LC-MS/MS προσφέρει υψηλή ευαισθησία και σταθερότητα στην ανάλυση PFAS σε γάλα.

Τα περισσότερα συστήματα LC-MS/MS για target analysis PFAS βασίζονται σε triple quadrupole analyzers. Τα συστήματα αυτά αποτελούνται από τρία τετραπολικά πεδία: το πρώτο επιλέγει το precursor ion, το δεύτερο λειτουργεί ως collision cell όπου πραγματοποιείται θραύση του ιόντος και το τρίτο αναλύει τα παραγόμενα fragment ions. Η λειτουργία αυτή επιτρέπει ιδιαίτερα επιλεκτική ανίχνευση μέσω Multiple Reaction Monitoring (MRM), μειώνοντας σημαντικά τις παρεμβολές από το matrix. Οι Yu et al. (2015) έδειξαν ότι η χρήση triple quadrupole LC-MS/MS επιτρέπει αξιόπιστο προσδιορισμό πολλαπλών PFAS σε γάλα ακόμη και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις.



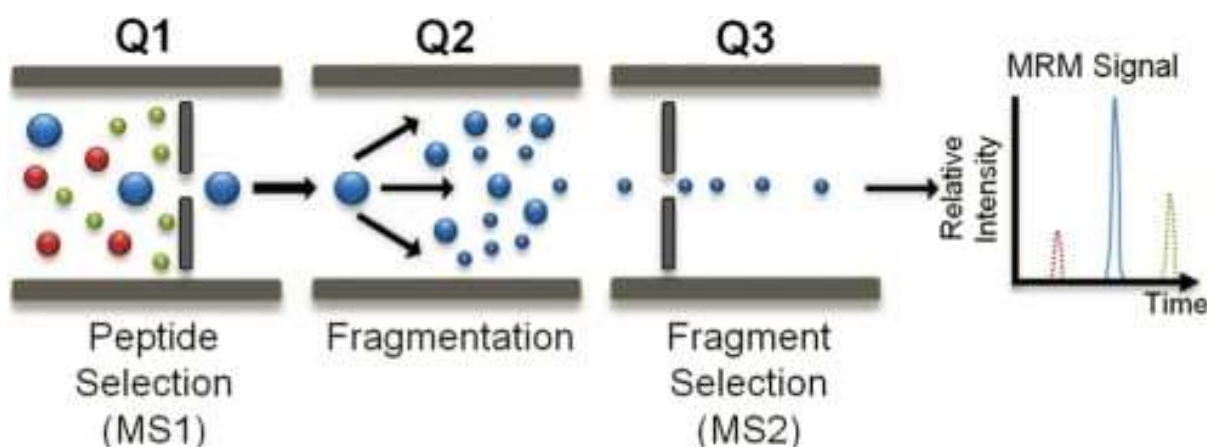
Σχήμα 17 : Αρχές υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας σε σειρά (LC-MS/MS). (ΠΗΓΗ : Journal of Analytical Science and Technology , Open Access CC BY)

6.3.2 Πλεονεκτήματα

Η LC-MS/MS παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα στην ανάλυση PFAS. Ένα από τα σημαντικότερα είναι η πολύ υψηλή ευαισθησία της μεθόδου. Οι συγκεντρώσεις PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι συνήθως εξαιρετικά χαμηλές, γεγονός που απαιτεί αναλυτικές

τεχνικές με πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης (LOD) και ποσοτικοποίησης (LOQ). Οι Shi et al. (2023) ανέφεραν ότι η LC-MS/MS μπορεί να επιτύχει ανίχνευση PFAS σε επίπεδα ng/kg σε δείγματα γάλακτος, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό για εφαρμογές ασφάλειας τροφίμων και περιβαλλοντικής παρακολούθησης.

Ένα ακόμη σημαντικό πλεονέκτημα είναι η υψηλή επιλεκτικότητα της τεχνικής. Η χρήση MRM transitions στα triple quadrupole συστήματα επιτρέπει την ταυτόχρονη ανάλυση πολλών PFAS ενώσεων με περιορισμένες παρεμβολές από την γαλακτική μήτρα. Η επιλεκτικότητα στρατηγικής καθαρισμού είναι ιδιαίτερα σημαντική για τις παρεμποδίσεις στα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα οποία αποτελούν πολύπλοκα matrices με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και λιπαρά. Η LC-MS/MS προσφέρει επίσης τη δυνατότητα ταυτόχρονου προσδιορισμού μεγάλου αριθμού PFAS ενώσεων σε μία μόνο ανάλυση. Οι Genualdi et al. (2021) ανέπτυξαν και επικύρωσαν μέθοδο LC-MS/MS για τον προσδιορισμό πολλών PFAS σε τρόφιμα στο πλαίσιο του FDA Total Diet Study, επιβεβαιώνοντας τη δυνατότητα εφαρμογής της τεχνικής σε σύνθετα τρόφιμα με δύσκολες μήτρες καθαρισμού.



Σχήμα 18 : Σχηματική απεικόνιση φασματομετρίας μάζας παρακολούθησης πολλαπλών αντιδράσεων (MRM-MS) Τα χρωματισμένα (μπλε) ιόντα, επιλέγονται στο Q1, θραυσματοποιείται στο Q2 και ποσοτικοποιείται στο Q3 (Emily Boja et al., 2011, Open Access CC BY-NC 3.0)

6.3.3 Περιορισμοί

Παρά τα σημαντικά πλεονεκτήματα, η LC-MS/MS παρουσιάζει και ορισμένους περιορισμούς. Ο σημαντικότερος είναι ότι η target analysis επιτρέπει μόνο την ανίχνευση γνωστών PFAS

ενώσεων για τις οποίες υπάρχουν διαθέσιμα πρότυπα αναφοράς. Αν και, σήμερα είναι γνωστές χιλιάδες PFAS ενώσεις, πολλές από τις οποίες δεν είναι ακόμη πλήρως χαρακτηρισμένες ή εμπορικά διαθέσιμες ως standards. Αυτό σημαίνει ότι μεγάλο μέρος του οργανικού φθορίου σε ένα δείγμα μπορεί να παραμένει μη ταυτοποιημένο.

Η ανάγκη χρήσης προτύπων αναφοράς αποτελεί επίσης σημαντικό περιορισμό. Για την αξιόπιστη ποσοτικοποίηση PFAS απαιτούνται καθαρά analytical standards και isotope-labelled internal standards, τα οποία συχνά είναι ακριβά και δεν είναι διαθέσιμα για όλες τις ενώσεις. Οι Koch et al. (2020) υπογράμμισαν ότι η περιορισμένη διαθεσιμότητα των εσωτερικών προτύπων (internal standards) δυσκολεύει σημαντικά την ανάπτυξη ολοκληρωμένων target methods για emerging PFAS. Ένα ακόμη σημαντικό πρόβλημα είναι το matrix suppression. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα περιέχουν μεγάλες ποσότητες πρωτεϊνών, λιπαρών και άλλων οργανικών ενώσεων που μπορούν να επηρεάσουν την ιοντοποίηση των PFAS κατά την ESI. Η καταστολή του σήματος οδηγεί σε υποεκτίμηση των συγκεντρώσεων και επηρεάζει την ακρίβεια της ανάλυσης. Οι Shi et al. (2023) ανέφεραν ότι η αποτελεσματική προετοιμασία και καθαρισμό (clean up) του δείγματος είναι απαραίτητα για τη μείωση των γαλακτοκομικών παρεμβολών της μήτρας (matrix effects).

6.3.4 Internal standards

Η χρήση internal standards αποτελεί βασικό στοιχείο της ανάλυσης PFAS με LC-MS/MS. Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα είναι isotope-labelled standards, δηλαδή ενώσεις χημικά όμοιες με τους αναλύτες αλλά επισημασμένες με σταθερά ισότοπα όπως ^{13}C ή ^{18}O . Οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν παρόμοια συμπεριφορά κατά την εκχύλιση, τον χρωματογραφικό διαχωρισμό και την ιοντοποίηση, επιτρέποντας τη διόρθωση απωλειών και matrix effects. Η χρήση isotope-labelled standards βελτιώνει σημαντικά την ακρίβεια και την αξιοπιστία της ποσοτικοποίησης. Οι Genualdi et al. (2021) υπογράμμισαν ότι τα isotope-labelled internal standards είναι απαραίτητα για την αντιμετώπιση μεταβολών στην ανάκτηση και στην ιοντοποίηση κατά την ανάλυση σύνθετων τροφικών matrices. Συν τοις άλλοις, επιτρέπουν τη διόρθωση πιθανών απωλειών λόγω προσρόφησης ή επιμόλυνσης κατά την προετοιμασία του δείγματος.

6.3.5 Στοχευμένη Ανάλυση (Target Analysis)

Η στοχευμένη ανάλυση αποτελεί την κύρια μέθοδο στην αναλυτική χημεία για την ανίχνευση υπέρ και πολυφθοροαλκυλικών ουσιών PFAS . Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για προκαθορισμένες αναλύσεις συγκεκριμένων ουσιών , όπου υπάρχουν διαθέσιμα εμπορικά πρότυπα αναφοράς υψηλής καθαρότητας καθώς και ισοτοπικά επισημασμένα εσωτερικά πρότυπα που χρησιμοποιούνται στις μετρήσεις (Reunala et al.,2024). Ένα από τα πλεονεκτήματα της ανάλυσης αυτής είναι ότι επιτρέπει την ακριβή μέτρηση ουσιών με υψηλή ακρίβεια και μπορεί να ανιχνεύσει μέχρι και τα όρια της ποσοτικοποίησης (LOQ) σε ποσότητες δηλαδή έως και μερικά ανά τρισεκατομμύρια (ng/kg ή ppt) , δίνοντας την εγγύτητα για την εξαιρετική επιλεκτικότητα και αναλυτική ευαισθησία (Sadia et al.,2023). Ο καλύτερος τρόπος για την ανάλυση συγκεκριμένων ενώσεων PFAS είναι η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας σε σειρά .

Επιπλέον η χρήση της μεθόδου αυτής σε γαλακτοκομικά προϊόντα όπως το γάλα , το βούτυρο και το τυρί αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την ανίχνευση των ενώσεων αυτών για τα τρόφιμα και τη δημόσια υγεία όπως ορίζονται από το ρυθμιστικό σύστημα της Ευρωπαϊκής Ένωσης διασφαλίζοντας αποδεδειγμένα ότι οι ενώσεις αυτές μετρούνται σε επίπεδα χαμηλότερα από το ένα πέμπτο του νόμιμου ορίου (Ευρωπαϊκή Επιτροπή 2022). Επίσης εξαιτίας της περίπλοκης μήτρας από λίπη , πρωτεΐνες όπως καζεΐνη δημιουργούν προβλήματα στην ενίσχυση ή καταστολή σήματος κατά τον ηλεκτροψεκασμό (Titaley et al.,2023) με την στοχευμένη ανάλυση να δίνει λύση σε αυτό το πρόβλημα με την μέθοδο αραίωσης ισοτόπων. Έτσι με την προσθήκη επισημασμένων πριν την προεργασία του δείγματος συμβάλλει στην αντιστάθμιση απωλειών και λαμβάνει υπόψιν και τον τρόπο απόκρισης του οργάνου (Berendsen et al.,2020).Ωστόσο η στοχευμένη ανάλυση έχει έναν σημαντικό περιορισμό , δεν μπορεί να ανιχνεύει νέα αναδυόμενα ή ακόμα και βραχείας αλυσίδας PFAS όπως GenX , ADONA καθώς και τα υποκατάστατα των ενώσεων αυτών με τις πρόδρομες να μεταβάλλονται (Scholz et al.,2025). Παρόλα αυτά αποτελεί σημαντικό εργαλείο για τον επίσημο έλεγχο της ποσότητας και της ποιότητας .

6.3.6 Non-target και Suspect Screening

Η συνεχής ανάπτυξη νέων PFAS ενώσεων και οι περιορισμοί των συμβατικών στοχευμένων μεθόδων ανάλυσης (target analysis) οδήγησαν στην ανάπτυξη μη- στοχευμένων μεθόδων (non-target) και ημι- στοχευμένων (suspect screening) προσεγγίσεων. Οι τεχνικές αυτές χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση άγνωστων, μη στοχευμένων ή αναδυόμενων PFAS (emerging PFAS) ενώσεων που δεν μπορούν να προσδιοριστούν με συμβατική LC-MS/MS ανάλυση.

Οι non-target και suspect screening προσεγγίσεις βασίζονται κυρίως σε τεχνικές φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (High Resolution Mass Spectrometry, HRMS). Τα συστήματα Orbitrap και Time-of-Flight Mass Spectrometry (TOF-MS) λειτουργούν με υψηλή διακριτική ικανότητα (Resolving Power > 40.000 έως και 100.000 FWHM) επιτρέπουν την ακριβή μέτρηση της μάζας των ιόντων και τον προσδιορισμό πιθανών μοριακών τύπων ακόμη και για άγνωστες ενώσεις (Mass Accuracy με λιγότερο από 1 μέχρι 3 ppm)(Krauss et al., 2010; Al Amin et al., 2021). Οι Koch et al. (2020) επισήμαναν ότι οι HRMS τεχνικές αποτελούν σήμερα βασικό εργαλείο για την ανίχνευση emerging PFAS και τη διερεύνηση της συνολικής οργανικής φθοριωμένης επιβάρυνσης.

Το suspect screening βασίζεται σε λίστες πιθανών PFAS ενώσεων που αναζητούνται χωρίς απαραίτητα να υπάρχουν διαθέσιμα πρότυπα αναφοράς. Δηλαδή, βασίζεται σε βάσεις δεδομένων (σύμφωνα με την λίστα US EFSA όπου περιέχει πάνω από 12.000 ενώσεις PFAS), τα οποία με βάση την ακριβούς μάζας και του ισοτοπικού τους προφίλ προσπαθούν να τα αναζητήσουν (Berzen-Hanson et al., 2017) . Αντίθετα, το non-target screening στοχεύει στην ανίχνευση οποιασδήποτε φθοριωμένης ένωσης παρουσιάζει χαρακτηριστικό φασματομετρικό προφίλ. Οι τεχνικές αυτές επιτρέπουν την ανακάλυψη νέων ή άγνωστων PFAS που δεν περιλαμβάνονται στις συμβατικές target methods.

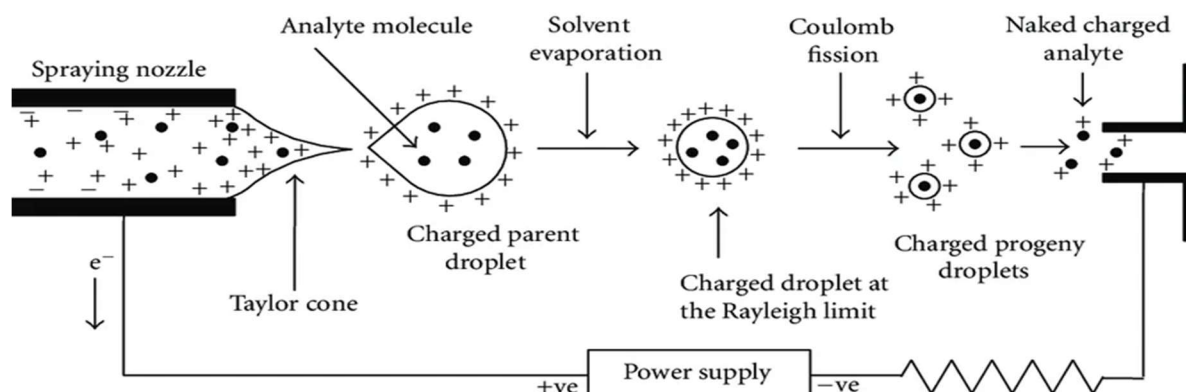
Οι Miaz et al. (2020) χρησιμοποίησαν suspect και target screening σε συνδυασμό με προσδιορισμό extractable organic fluorine (EOF), δείχνοντας ότι σημαντικό ποσοστό οργανικού φθορίου σε βιολογικά δείγματα δεν μπορούσε να εξηγηθεί από τις γνωστές PFAS ενώσεις , με το ποσοστό να κυμαίνεται από 30-70%. Τα αποτελέσματα αυτά αναδεικνύουν τη σημασία των HRMS τεχνικών για την κατανόηση της πραγματικής έκθεσης σε PFAS. Παρόλο που οι HRMS τεχνικές προσφέρουν σημαντικά πλεονεκτήματα, παρουσιάζουν και ορισμένους περιορισμούς. Η ανάλυση και επεξεργασία των δεδομένων είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη και απαιτεί εξειδικευμένο λογισμικό και υψηλή υπολογιστική ισχύ (Hollender et al., 2017). Πέραν τούτου, η απουσία προτύπων αναφοράς δυσκολεύει την ακριβή ποσοτικοποίηση πολλών emerging PFAS. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα για να μπορέσουμε να τα ποσοτικοποιήσουμε , να τα χωρίζουμε με βάση την δομική συγγένεια των ενώσεων και την κοινή τους συμπεριφορά.

6.4 Φαινόμενα Μήτρας κατά τον Ιονισμό Electrospray

Η ανάλυση των υπερφθοριωμένων και πολυφθοριωμένων αλκυλιωμένων ενώσεων (PFAS) σε γαλακτοκομικά προϊόντα συνοδεύεται από σημαντικές αναλυτικές προκλήσεις, οι οποίες σχετίζονται κυρίως με την πολύπλοκη σύσταση της μήτρας των δειγμάτων (Domingo & Nadal, 2019). Το γάλα και τα παράγωγά του αποτελούν σύνθετα υποστρώματα, καθώς περιέχουν πρωτεΐνες, λιπίδια, φωσφολιπίδια, σάκχαρα και ανόργανα συστατικά, τα οποία είναι δυνατόν να αλληλεπιδράσουν με τις υπό ανάλυση ενώσεις και να επηρεάσουν την απόδοση της εφαρμοζόμενης αναλυτικής μεθόδου (Trimmel et al., 2021).

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που εμφανίζονται κατά τον ποσοτικό προσδιορισμό των PFAS με υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μαζών διαδοχικού τριπλού τετραπόλου (LC-MS/MS) είναι τα φαινόμενα μήτρας (matrix effects, ME). Ως matrix effects ορίζεται η μεταβολή της απόκρισης του αναλύτη που προκαλείται από την παρουσία συστατικών της μήτρας τα οποία συνεκχυλίζονται κατά την προετοιμασία του δείγματος και φτάνουν μαζί με τον αναλύτη στο σύστημα ανάλυσης (Matuszewski et al., 2003). Τα φαινόμενα αυτά εκδηλώνονται σχεδόν αποκλειστικά στο στάδιο του ηλεκτροψεκαστικού ιονισμού (Electrospray Ionization, ESI), ο οποίος για την ανάλυση των PFAS λειτουργεί συνήθως σε αρνητική λειτουργία (ESI⁻). Κατά τη διαδικασία αυτή, διάφορα συστατικά της μήτρας ανταγωνίζονται τα μόρια των PFAS τόσο για το διαθέσιμο ηλεκτρικό φορτίο όσο και για την επιφάνεια των φορτισμένων σταγονιδίων που σχηματίζονται κατά τον ιονισμό, με αποτέλεσμα να μεταβάλλεται η αποτελεσματικότητα της διαδικασίας ιονισμού (Taylor, 2005).

Όταν το δείγμα περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις ενδογενών μη πτητικών συστατικών, οι φυσικοχημικές ιδιότητες του διαλύτη, όπως το ιξώδες και η επιφανειακή τάση, μπορούν να μεταβληθούν σημαντικά. Οι μεταβολές αυτές δυσχεραίνουν την αποτελεσματική εξάτμιση του διαλύτη και κατ' επέκταση την απελευθέρωση των ιόντων των PFAS στην αέρια φάση, γεγονός που επηρεάζει άμεσα την απόκριση του αναλυτικού συστήματος (Gao et al., 2024). Η συνηθέστερη μορφή matrix effect που παρατηρείται στα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι η καταστολή του σήματος (ion suppression). Στην περίπτωση αυτή, η παρουσία οργανικών συστατικών της μήτρας οδηγεί σε μείωση της έντασης του αναλυτικού σήματος και, κατά συνέπεια, σε υποεκτίμηση της πραγματικής συγκέντρωσης των PFAS στο δείγμα (Matuszewski et al., 2003).



Σχήμα 19 : Μηχανισμός Ιονισμού μέσω Ηλεκτροψεκασμού (Electrospray Ionization – ESI) (Shibdas Banerjee & Shyamalava Mazumdar et al., 2012 Review Article, Open Access CC BY))

Η καταστολή του σήματος αποδίδεται κυρίως στην παρουσία φωσφολιπιδίων, πρωτεϊνών και υπολειμματικών λιπαρών ενώσεων, οι οποίες δεν απομακρύνονται πλήρως κατά τα στάδια προεπεξεργασίας και καθαρισμού του δείγματος (Trimmel et al., 2021). Αντίθετα, σε ορισμένες περιπτώσεις είναι δυνατόν να παρατηρηθεί το φαινόμενο της ενίσχυσης του σήματος (ion enhancement). Στην περίπτωση αυτή, συστατικά της μήτρας, όπως ενώσεις που εμφανίζουν επιφανειοδραστικές ιδιότητες, μπορούν να αυξήσουν την αποδοτικότητα του ιονισμού, οδηγώντας τελικά σε υπερεκτίμηση της συγκέντρωσης των αναλυτών (Taylor, 2005). Παρόλο που το φαινόμενο της ενίσχυσης του σήματος εμφανίζεται λιγότερο συχνά σε σχέση με την καταστολή, έχει αναφερθεί σε αναλύσεις PFAS σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης και για τον λόγο αυτό απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή κατά την ποσοτικοποίηση των ενώσεων αυτών (Berendsen et al., 2020).

Η ποσοτική αξιολόγηση των matrix effects πραγματοποιείται συνήθως μέσω του υπολογισμού του συντελεστή %ME. Για τον υπολογισμό αυτό συγκρίνεται η επιφάνεια της κορυφής του αναλύτη σε ένα πρότυπο διάλυμα με την αντίστοιχη επιφάνεια που λαμβάνεται από ένα τυφλό δείγμα μήτρας, στο οποίο ο αναλύτης έχει προστεθεί μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας εκχύλισης (post-extraction spike), σύμφωνα με την εξίσωση που προτείνουν οι Matuszewski et al. (2003). Τιμές του ME κοντά στο 100% υποδηλώνουν ότι τα φαινόμενα μήτρας είναι πρακτικά αμελητέα ή απουσιάζουν. Αντίθετα, τιμές μικρότερες του 100% αποτελούν ένδειξη καταστολής του σήματος, ενώ τιμές μεγαλύτερες του 100% υποδηλώνουν ενίσχυση του σήματος κατά τη διαδικασία του ιονισμού.

6.4.1 Η Επίδραση των Πρωτεϊνών (Καζεΐνη και Ορός Γάλακτος)

Στα γαλακτοκομικά υποστρώματα, ιδιαίτερη σημασία έχει η παρουσία της καζεΐνης, η οποία αντιπροσωπεύει περίπου το 80% του συνόλου των πρωτεϊνών του γάλακτος (Fox et al., 2015). Οι PFAS, εξαιτίας της αμφίφιλης φύσης τους, η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία μιας

υδρόφοβης υπερφθοριωμένης ανθρακικής αλυσίδας και μιας υδρόφιλης πολικής κεφαλής, εμφανίζουν ιδιαίτερα υψηλή τάση σύνδεσης με πρωτεΐνες (protein binding), κυρίως με την αλβουμίνη και τις καζεΐνες (Glynn et al., 2025). Οι αλληλεπιδράσεις αυτές βασίζονται κυρίως σε υδρόφοβες και ηλεκτροστατικές δυνάμεις, οι οποίες ευνοούν τη δέσμευση των ενώσεων στις πρωτεϊνικές δομές (Perez et al., 2013).

Εάν κατά το στάδιο της προετοιμασίας του δείγματος δεν επιτευχθεί πλήρης αποδιάταξη (denaturation) και καθίζηση των πρωτεϊνών, ένα σημαντικό μέρος των PFAS μπορεί να παραμείνει δεσμευμένο στο πρωτεϊνικό ίζημα. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ποσότητας των αναλυτών που ανακτάται τελικά από το δείγμα και συνεπώς την εμφάνιση χαμηλών ανακτήσεων (recoveries) (Curci et al., 2025). Για τον λόγο αυτό, η χρήση οργανικών διαλυτών, όπως το ακετονιτρίλιο (ACN) ή η μεθανόλη (MeOH), συχνά σε συνδυασμό με την προσθήκη οξέων, όπως το μυρμηκικό οξύ, θεωρείται απαραίτητη. Οι συνθήκες αυτές διευκολύνουν τόσο τη διάσπαση των δεσμών μεταξύ PFAS και πρωτεϊνών όσο και την αποτελεσματική καθίζηση της καζεΐνης (Sadia et al., 2023). Ο ορός γάλακτος (whey) αποτελεί επίσης σημαντική πηγή αναλυτικών παρεμβολών. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι περιέχει διαλυτές πρωτεΐνες, όπως η β-λακτογλοβουλίνη και η α-λακταλβουμίνη, καθώς και πληθώρα πεπτιδίων και μεταβολιτών (Fox et al., 2015). Οι ενώσεις αυτές μπορούν να συνεκχυλιστούν μαζί με τους αναλύτες και, εφόσον φτάσουν στην πηγή ιόντων, να συμβάλουν στα φαινόμενα καταστολής του ιονισμού κατά την ανάλυση LC-MS/MS. Ως αποτέλεσμα, επηρεάζονται αρνητικά η αναπαραγωγικότητα και η ακρίβεια της αναλυτικής μεθόδου (Taylor, 2005; Trimmel et al., 2021).

6.4.2 Η Επίδραση του Λιπιδικού Υποστρώματος (Λίπος Γάλακτος)

Τα λιπίδια αποτελούν μία από τις σημαντικότερες πηγές φαινομένων μήτρας κατά την ανάλυση PFAS σε γάλα, βούτυρο, τυρί και γενικότερα σε γαλακτοκομικά προϊόντα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά (Berendsen et al., 2020). Παρότι πολλές PFAS εμφανίζουν μεγαλύτερη συγγένεια προς τις πρωτεϊνικές δομές σε σύγκριση με τα λιπίδια, η παρουσία λιπαρών συστατικών επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την καθαρότητα των τελικών εκχυλισμάτων και κατ' επέκταση την αναλυτική απόδοση της μεθόδου (Domingo & Nadal, 2019). Ειδικότερα, τα φωσφολιπίδια συνεκχυλίζονται σε σημαντικό βαθμό κατά τη χρήση οργανικών

διαλυτών. Όταν τα συστατικά αυτά εισέλθουν στο σύστημα LC-MS/MS, συσσωρεύονται στη στήλη ανάστροφης φάσης (C18), εκλούνται με αργό ρυθμό και μπορούν να προκαλέσουν εκτεταμένη και συχνά μη αναπαραγώγιμη καταστολή του σήματος στην πηγή ιόντων. Το πρόβλημα γίνεται εντονότερο επειδή τα φωσφολιπίδια εκλούνται στην ίδια περίπου χρωματογραφική περιοχή με PFAS μακράς αλυσίδας, όπως το PFOA, το PFOS και το PFNA (Taylor et al., 2022). Για τον λόγο αυτό, η εφαρμογή πρόσθετων σταδίων απολίπανσης (defatting), καθώς και εξειδικευμένων διαδικασιών καθαρισμού μέσω εκχύλισης στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction, SPE) ή διασκεδαστικής εκχύλισης στερεάς φάσης (d-SPE), θεωρείται απαραίτητη πριν από τον τελικό προσδιορισμό των ενώσεων (Powley et al., 2005).

Οι κυριότερες τεχνικές που εφαρμόζονται περιλαμβάνουν:

- Τεχνική Κατάψυξης (Freeze-out): Το οργανικό εκχύλισμα ψύχεται σε θερμοκρασίες μικρότερες από -20°C για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 12 ωρών. Υπό αυτές τις συνθήκες προκαλείται η στερεοποίηση και η καθίζηση των τριγλυκεριδίων, τα οποία στη συνέχεια μπορούν να απομακρυνθούν εύκολα με φυγοκέντρηση (Jian et al., 2017).
- Διασκεδαστική Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (d-SPE / QuEChERS): Η τεχνική βασίζεται στη χρήση προσροφητικών υλικών, όπως ο σταθεροποιημένος C18, ο οποίος συγκρατεί τα μη πολικά λιπίδια, και οι πρωτοταγείς-δευτεροταγείς αμίνες (PSA). Επιπλέον, μπορούν να χρησιμοποιηθούν πιο εξελιγμένα υλικά με βάση το ζirkόνιο (Z-Sep), τα οποία παρουσιάζουν υψηλή εκλεκτικότητα για τη συγκράτηση φωσφολιπιδίων χωρίς να προσροφούν τις PFAS ενώσεις (Plumlee et al., 2020).

6.4.3 Στρατηγικές Αντιμετώπισης των Matrix Effects

Για τον αποτελεσματικό περιορισμό των matrix effects και τη διασφάλιση της ακρίβειας, της επαναληψιμότητας και της συνολικής αξιοπιστίας των αναλυτικών αποτελεσμάτων, εφαρμόζονται συγκεκριμένες αναλυτικές στρατηγικές (Kärman et al., 2006):

1. Βαθμονόμηση σε Προσομοιωμένη Μήτρα (Matrix-matched calibration): Η καμπύλη βαθμονόμησης κατασκευάζεται με την προσθήκη προτύπων διαλυμάτων σε λευκό

δείγμα μήτρας (blank matrix), το οποίο έχει υποστεί ακριβώς την ίδια διαδικασία προετοιμασίας με τα πραγματικά δείγματα. Με τον τρόπο αυτό, οι αναλύτες στα πρότυπα υφίστανται την ίδια καταστολή ή ενίσχυση σήματος με εκείνη που παρατηρείται στα δείγματα, επιτρέποντας ακριβέστερη ποσοτικοποίηση.

2. Μέθοδος Αραίωσης Ισοτόπων (Isotope Dilution): Η προσέγγιση αυτή θεωρείται η πλέον αξιόπιστη και επιστημονικά τεκμηριωμένη πρακτική. Πριν από οποιοδήποτε στάδιο επεξεργασίας, προστίθεται στο δείγμα γνωστή ποσότητα ισοτοπικά επισημασμένων εσωτερικών προτύπων με άνθρακα $^{13}\text{C}_4$ -PFOA όπως τα $^{13}\text{C}_4$ -PFOA. Επειδή τα ισοτοπικά ανάλογα παρουσιάζουν τις ίδιες φυσικοχημικές ιδιότητες με τους φυσικούς αναλυτές και συνεκλούνται στον ίδιο χρόνο, υφίστανται ακριβώς την ίδια καταστολή ή ενίσχυση σήματος. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται αυτόματη διόρθωση (normalization) των αποτελεσμάτων και σημαντική βελτίωση της ακρίβειας της μεθόδου (Matuszewski et al., 2003; Sadia et al., 2023)

6.5 Προσδιορισμός Συνολικού Φθορίου

6.5.1 Extractable Organic Fluorine (EOF)

Ο προσδιορισμός του συνολικού οργανικού φθορίου αποτελεί μία από τις σημαντικότερες σύγχρονες προσεγγίσεις για την αξιολόγηση της συνολικής παρουσίας PFAS σε τρόφιμα και περιβαλλοντικά δείγματα. Οι συμβατικές target μέθοδοι, όπως η LC-MS/MS, επιτρέπουν τον προσδιορισμό μόνο γνωστών PFAS ενώσεων για τις οποίες υπάρχουν πρότυπα αναφοράς. Παρά ταύτα, σήμερα είναι γνωστές χιλιάδες PFAS ενώσεις, πολλές από τις οποίες δεν μπορούν να ανιχνευθούν με τις κλασικές αναλυτικές τεχνικές. Για τον λόγο αυτό, οι μέθοδοι συνολικού οργανικού φθορίου αποκτούν ολοένα μεγαλύτερη σημασία.

Το Extractable Organic Fluorine (EOF) χρησιμοποιείται για την εκτίμηση του συνολικού οργανικού φθορίου που μπορεί να εκχυλιστεί από ένα δείγμα. Η μέθοδος δεν προσδιορίζει συγκεκριμένες PFAS ενώσεις, αλλά μετρά το συνολικό ποσό οργανικά δεσμευμένου φθορίου που περιέχεται στο εκχύλισμα. Με τον τρόπο αυτό παρέχει μία συνολική εικόνα της

φθοριωμένης οργανικής επιβάρυνσης ενός δείγματος, ακόμη και όταν υπάρχουν άγνωστες ή μη στοχευμένες PFAS ενώσεις.

Η σημασία του EOF σχετίζεται κυρίως με την ανίχνευση unknown PFAS. Σε πολλές περιπτώσεις, οι συγκεντρώσεις οργανικού φθορίου που μετρώνται με EOF είναι σημαντικά υψηλότερες από το άθροισμα των γνωστών PFAS που προσδιορίζονται με target analysis. Το φαινόμενο αυτό υποδεικνύει την παρουσία άγνωστων ή emerging PFAS ενώσεων που δεν περιλαμβάνονται στις συμβατικές αναλυτικές μεθόδους. Οι McDonough et al. (2019) ανέφεραν ότι ένα μεγάλο μέρος του συνολικού οργανικού φθορίου σε περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα δεν μπορεί να αποδοθεί στις ήδη γνωστές PFAS ενώσεις, γεγονός που αναδεικνύει τη σημασία των συνολικών fluorine methods. Οι Miaz et al. (2020) χρησιμοποίησαν συνδυαστικά target analysis και EOF για την αξιολόγηση PFAS σε βιολογικά δείγματα και διαπίστωσαν ότι σημαντικό ποσοστό του οργανικού φθορίου παρέμενε μη ταυτοποιημένο. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν ότι η ανθρώπινη και περιβαλλοντική έκθεση δεν περιορίζεται μόνο στις γνωστές PFAS ενώσεις που αναλύονται συνήθως με LC-MS/MS.

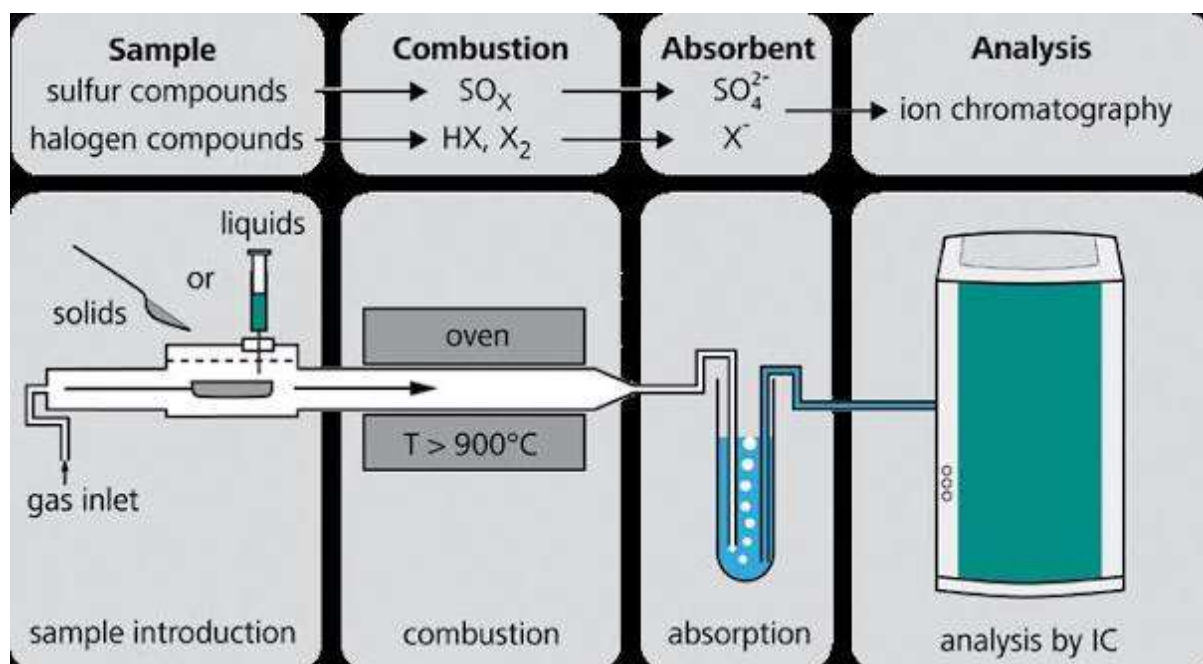
Η έννοια της organic fluorine fraction είναι ιδιαίτερα σημαντική στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων EOF. Ο όρος αυτός αναφέρεται στο ποσοστό του συνολικού οργανικού φθορίου που μπορεί να εξηγηθεί από γνωστές PFAS ενώσεις μετά από target analysis. Σε πολλές περιπτώσεις, η fraction αυτή είναι μικρή, γεγονός που υποδηλώνει την ύπαρξη άγνωστων οργανικών φθοριωμένων ενώσεων στο δείγμα. Οι Koch et al. (2020) ανέδειξαν ότι ο συνδυασμός EOF και HRMS τεχνικών αποτελεί ιδιαίτερα χρήσιμο εργαλείο για τη διερεύνηση emerging PFAS. Η εφαρμογή του EOF στα γαλακτοκομικά προϊόντα παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της πολυπλοκότητας των matrices και της πιθανής παρουσίας μη ταυτοποιημένων PFAS. Το γάλα, το τυρί και το γιαούρτι περιέχουν πολύπλοκα οργανικά συστατικά που μπορούν να επηρεάσουν την ανάλυση, γεγονός που καθιστά απαραίτητη την αποτελεσματική προετοιμασία και cleanup των δειγμάτων πριν από τον προσδιορισμό του EOF.

6.5.2 Combustion Ion Chromatography (CIC)

Η Combustion Ion Chromatography (CIC) αποτελεί μία από τις βασικότερες τεχνικές για τον προσδιορισμό συνολικού οργανικού φθορίου. Η μέθοδος χρησιμοποιείται ευρέως για την ανάλυση PFAS σε περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα και εφαρμόζεται ολοένα συχνότερα και σε τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων των γαλακτοκομικών προϊόντων.

Η αρχή λειτουργίας της CIC βασίζεται στην καύση του δείγματος σε πολύ υψηλή θερμοκρασία, συνήθως άνω των 1000°C. Κατά την καύση, όλες οι οργανικές φθοριωμένες ενώσεις αποδομούνται και το οργανικά δεσμευμένο φθόριο μετατρέπεται σε υδροφθόριο (HF). Το παραγόμενο HF συλλέγεται σε απορροφητικό διάλυμα και στη συνέχεια αναλύεται με ion chromatography για τον ποσοτικό προσδιορισμό του φθορίου.

Η διαδικασία καύσης αποτελεί κρίσιμο στάδιο της μεθόδου, καθώς πρέπει να εξασφαλίζεται πλήρης αποικοδόμηση όλων των οργανικών φθοριωμένων ενώσεων. Η ατελής καύση μπορεί να οδηγήσει σε υποεκτίμηση του συνολικού οργανικού φθορίου. Οι Aro et al. (2021) ανέφεραν ότι η σωστή ρύθμιση της θερμοκρασίας και των συνθηκών καύσης είναι απαραίτητη για αξιόπιστα αποτελέσματα CIC. Μετά την καύση, το παραγόμενο HF μεταφέρεται σε υδατικό διάλυμα όπου μετατρέπεται σε φθοριούχα ιόντα (F⁻). Τα ιόντα αυτά προσδιορίζονται στη συνέχεια με ion chromatography, η οποία επιτρέπει ακριβή και ευαίσθητη μέτρηση του συνολικού φθορίου. Η ion chromatography βασίζεται στον διαχωρισμό των ιόντων σε ειδική χρωματογραφική στήλη και στην ανίχνευσή τους μέσω αγωγιμομετρικού detector.



Σχήμα 20: Τα βήματα ανάλυσης της ιοντικής χρωματογραφίας . (Πηγή :Technical Artikel TA -021EN Metrohm 2022)

Η CIC παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα στην ανάλυση PFAS. Το βασικότερο είναι ότι επιτρέπει τη μέτρηση του συνολικού οργανικού φθορίου ανεξάρτητα από τη χημική ταυτότητα των ενώσεων. Με τον τρόπο αυτό, η μέθοδος μπορεί να ανιχνεύσει τόσο γνωστές όσο και unknown PFAS ενώσεις, ακόμη και όταν δεν υπάρχουν διαθέσιμα standards ή πληροφορίες για τη δομή τους. Οι McDonough et al. (2019) υπογράμμισαν ότι ο προσδιορισμός του συνολικού φθορίου παρέχει πιο ολοκληρωμένη εικόνα της συνολικής PFAS επιβάρυνσης σε σχέση με την στοχευμένη ανάλυση (target analysis).

Ένα ακόμη σημαντικό πλεονέκτημα της CIC είναι ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με EOF και HRMS τεχνικές για την αξιολόγηση της παρουσίας unknown PFAS. Οι Aro et al. (2021) ανέφεραν ότι ο συνδυασμός CIC και suspect screening επιτρέπει την καλύτερη κατανόηση της συνολικής οργανικής φθοριωμένης επιβάρυνσης ενός δείγματος.

Παρά τα παραπάνω πλεονεκτήματα, η CIC παρουσιάζει και ορισμένους σημαντικούς περιορισμούς. Ο βασικότερος είναι ότι η μέθοδος δεν επιτρέπει τον προσδιορισμό individual compounds. Η CIC μετρά μόνο το συνολικό οργανικό φθόριο και δεν παρέχει πληροφορίες σχετικά με το ποιες συγκεκριμένες PFAS ενώσεις υπάρχουν στο δείγμα. Για τον λόγο αυτό δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνη της για πλήρη ποιοτική και ποσοτική ανάλυση PFAS. Ακόμη,

η CIC παρουσιάζει χαμηλότερη εξειδίκευση σε σύγκριση με τις target LC-MS/MS μεθόδους. Η μέθοδος δεν μπορεί να διαχωρίσει PFAS από άλλες οργανικές φθοριωμένες ενώσεις που μπορεί να υπάρχουν στο δείγμα. Ως εκ τούτου, τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή και συνήθως συνδυάζονται με άλλες αναλυτικές τεχνικές.

6.6 Σύγκριση Μεθόδων

Οι αναλυτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό PFAS μπορούν να διακριθούν σε target analysis methods και total fluorine methods. Οι στοχευμένοι μέθοδοι ανάλυσης (target analysis), κυρίως LC-MS/MS, χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση συγκεκριμένων γνωστών PFAS ενώσεων, ενώ οι total fluorine methods όπως EOF και CIC στοχεύουν στον προσδιορισμό της συνολικής οργανικής φθοριωμένης επιβάρυνσης.

Η στοχευμένη ανάλυση παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία και επιλεκτικότητα. Η χρήση triple quadrupole LC-MS/MS επιτρέπει χαμηλά LOD και LOQ, καθώς και αξιόπιστη ποσοτικοποίηση γνωστών PFAS ακόμη και σε πολύπλοκα matrices όπως το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Οι Hill et al. (2022) και Shi et al. (2023) έδειξαν ότι η LC-MS/MS αποτελεί ιδιαίτερα αποτελεσματική μέθοδο για τον προσδιορισμό PFAS σε γάλα με υψηλή ακρίβεια και χαμηλά όρια ανίχνευσης. Αντιθέτως, οι total fluorine methods εμφανίζουν χαμηλότερη εξειδίκευση αλλά παρέχουν πιο ολοκληρωμένη εικόνα της συνολικής παρουσίας οργανικού φθορίου. Οι EOF και CIC είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για την ανίχνευση unknown ή emerging PFAS που δεν μπορούν να προσδιοριστούν με target analysis. Μολονότι, δεν επιτρέπουν την ταυτοποίηση individual compounds.

Υπάρχουν επίσης σημαντικές διαφορές ως προς το κόστος και τις απαιτήσεις εξοπλισμού. Η LC-MS/MS και ιδιαίτερα οι HRMS τεχνικές απαιτούν εξειδικευμένο και ακριβό εξοπλισμό, καθώς και εξειδικευμένο προσωπικό. Αντίστοιχα, οι μέθοδοι CIC απαιτούν ειδικά συστήματα καύσης και ion chromatography, αλλά η επεξεργασία των δεδομένων είναι συνήθως λιγότερο πολύπλοκη σε σχέση με τις HRMS τεχνικές.

Η εφαρμογή των διαφορετικών μεθόδων εξαρτάται και από το είδος του γαλακτοκομικού προϊόντος. Στο γάλα χρησιμοποιούνται συχνότερα LC-MS/MS target methods λόγω της

ανάγκης ακριβούς ποσοτικοποίησης γνωστών PFAS. Σε πιο πολύπλοκα matrices όπως το τυρί και το γιαούρτι, οι total fluorine methods μπορούν να παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με τη συνολική οργανική φθοριωμένη επιβάρυνση. Στην πράξη, οι περισσότερες σύγχρονες προσεγγίσεις βασίζονται στον συνδυασμό διαφορετικών μεθόδων. Οι target LC-MS/MS τεχνικές χρησιμοποιούνται για ακριβή ποσοτικοποίηση γνωστών PFAS, ενώ οι EOF, CIC και HRMS τεχνικές χρησιμοποιούνται συμπληρωματικά για την ανίχνευση unknown και emerging PFAS. Οι Koch et al. (2020) έδειξαν επίσης ότι οι συνδυαστικές προσεγγίσεις αποτελούν σήμερα την πιο ολοκληρωμένη στρατηγική για την αξιολόγηση της συνολικής PFAS επιβάρυνσης σε τρόφιμα και περιβαλλοντικά δείγματα.

6.7.1 Εκλεκτικότητα και Εξειδίκευση

Η πολυπλοκότητα της σύστασης των γαλακτοκομικών προϊόντων καθιστά απαραίτητη τη διασφάλιση υψηλού βαθμού εκλεκτικότητας, ώστε να αποφεύγεται η λανθασμένη ταυτοποίηση παρεμβαλλόμενων συστατικών της μήτρας ως PFAS. Η απαίτηση αυτή ικανοποιείται μέσω του συνδυασμού της χρωματογραφικής κατακράτησης σε σύστημα UHPLC και της φασματομετρικής ανίχνευσης με προγραμματισμένο εντοπισμό ιόντων (Multiple Reaction Monitoring, MRM) σε φασματομετρία μαζών διαδοχικού τριπλού τετραπλού (LC-MS/MS). Για κάθε PFAS είναι απαραίτητη η παρακολούθηση τουλάχιστον δύο μεταπτώσεων, μιας μετάπτωσης ποσοτικοποίησης (quantifier ion) και μιας μετάπτωσης επιβεβαίωσης (qualifier ion). Σύμφωνα με τα ευρωπαϊκά κριτήρια αποδοχής, ο λόγος των εντάσεων των δύο αυτών ιόντων (ion ratio) στα δείγματα πρέπει να συμφωνεί με τον αντίστοιχο λόγο των προτύπων διαλυμάτων εντός ορίου ανοχής $\pm 30\%$ (European Commission, 2021).

6.7.2 Γραμμικότητα και Δυναμική Περιοχή (Range)

Η γραμμικότητα περιγράφει την ικανότητα της μεθόδου να παρέχει αποκρίσεις, όπως τα εμβαδά κορυφών, οι οποίες είναι ανάλογες της συγκέντρωσης του αναλυτή μέσα σε ένα καθορισμένο εύρος συγκεντρώσεων. Εξαιτίας των έντονων φαινομένων μήτρας που χαρακτηρίζουν τα γαλακτοκομικά προϊόντα, η αξιολόγηση της γραμμικότητας δεν θα πρέπει να πραγματοποιείται σε καθαρά πρότυπα διαλύματα, αλλά μέσω καμπυλών βαθμονόμησης

που κατασκευάζονται σε λευκή μήτρα (matrix-matched calibration) ή με εφαρμογή της μεθόδου προσθήκης προτύπου (standard addition). Η καμπύλη βαθμονόμησης πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον πέντε έως έξι επίπεδα συγκεντρώσεων, ενώ ο συντελεστής προσδιορισμού (R^2) οφείλει να υπερβαίνει το 0,990 (Trimmel et al., 2021). Επιπρόσθετα, οι υπολογιζόμενες συγκεντρώσεις για κάθε επίπεδο βαθμονόμησης (back-calculated concentrations) πρέπει να βρίσκονται εντός του ορίου $\pm 20\%$ της ονομαστικής τους τιμής.

6.7.3 Πιστότητα / Ανάκτηση

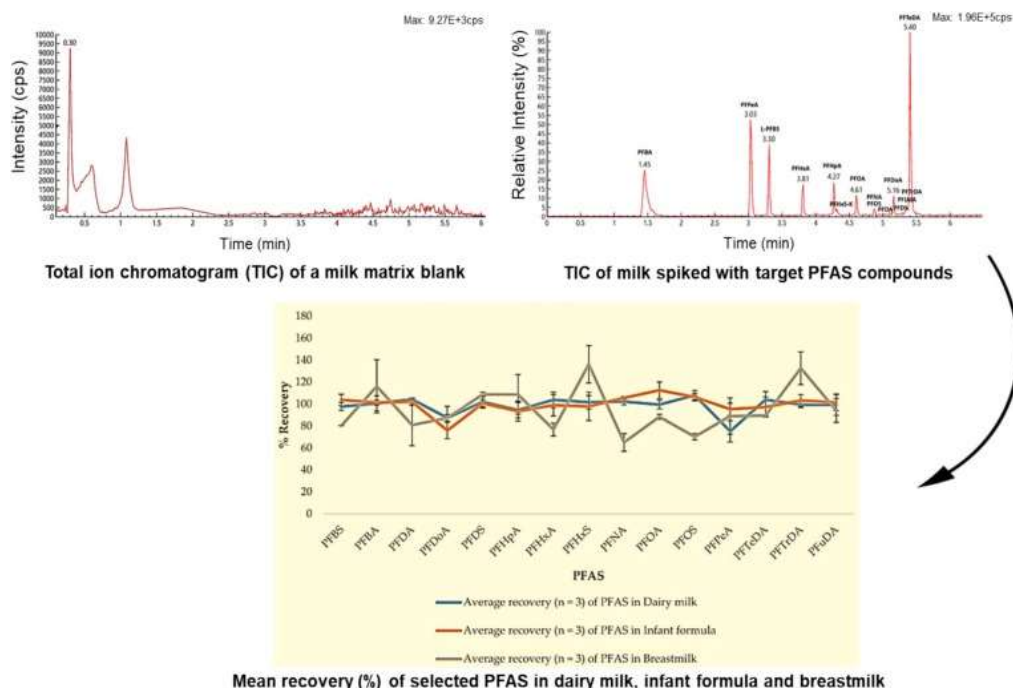
Η πιστότητα (Accuracy) εκφράζει τον βαθμό συμφωνίας μεταξύ της μέσης τιμής ενός μεγάλου αριθμού μετρήσεων και μιας αποδεκτής τιμής αναφοράς αποτελώντας κρίσιμο δείκτη για την αξιοπιστία της μεθόδου σε σχέση με τα συστηματικά σφάλματα (AOAC, 2016). Η παράμετρος αυτή αξιολογείται συνήθως μέσω πειραμάτων εμπλουτισμού (spiking experiments), κατά τα οποία γνωστές ποσότητες PFAS προστίθενται σε πραγματικά λευκά δείγματα γάλακτος, γιαουρτιού ή τυριού πριν από την έναρξη της διαδικασίας προετοιμασίας του δείγματος. Η αποτελεσματικότητα της συνολικής διαδικασίας εκφράζεται ως ποσοστό ανάκτησης (recovery). Για αναλύσεις ιχνοποσοτήτων σε σύνθετες μήτρες τροφίμων, οι μέσες ανακτήσεις θεωρούνται αποδεκτές όταν κυμαίνονται μεταξύ 70% και 120% (European Commission, 2021). Στις περιπτώσεις όπου χρησιμοποιούνται ισοτοπικά επισημασμένα εσωτερικά πρότυπα για τη διόρθωση των αποτελεσμάτων, οι φαινομενικές ανακτήσεις (apparent recoveries) αναμένεται να προσεγγίζουν το 100%, με αποδεκτή απόκλιση της τάξης του $\pm 10\%$ (Burns et al., 2021). Αυτή η διεργασία μας επιτρέπει την αποτελεσματική αντιστάθμιση των απωλειών κατά την προετοιμασία των δειγμάτων, αλλά και καταστολή ή ενίσχυση σήματος εξαιτίας της παρεμβολής από την γαλακτική μήτρα κατά την ανάλυση με LC-MS/MS (Miaz et al., 2020).

Μέσα από μια σύγκριση των βιβλιογραφικών αναφορών και ερευνών, υπάρχουν κάποια πρωτόκολλα από ερευνητικούς φορείς για την πραγματοποίηση των μεθόδων εκχύλισης και το ποσοστό ανάκτηση τους (Recoveries %) όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

Γαλακτοκομικά Προϊόντα.	Τρόπος Εκχύλισης	Ποσοστό Ανάκτησης (Recoveries %)	Αναφορές
ΗΠΑ (Ακατέργαστο και επεξεργασμένο γάλα)	Όξινη και βασική εκχύλιση . Καθαρισμός με ENVI Carcb.	70-140%	Hill et al.,2021
Νότια Αφρική (Βρεφικό γάλα , γάλα λιανικής)	QuEChERS	60-120%	Abafe et al.,2021
Κίνα (Πλήρες γάλα , παστεριωμένο γάλα , γάλα σε σκόνη)	QuEChERS	PFCA -> 78,5-111% PFSAAs-> 72,8-105%	Yucheng et al.,2015

Πίνακας 2 : Συγκριτικός πίνακας από διάφορες χώρες για την ανάλυση PFAS σε γαλακτοκομικά προϊόντα και το ποσοστό ανάκτησης τους ανάλογα με τον τρόπο εκχύλισης και καθαρισμού μήτρας .

Παρακάτω θα δούμε ένα σχήμα από μια δημοσίευση των Abafi et al.,2021, όπου εστιάζει στα αποτελέσματα της ανάκτησης από δείγματα ανάλυσης διαφόρων γαλακτοκομικών προϊόντων. Μελετήθηκε η μέση ανάκτηση (n=3) για κάθε ένωση PFAS σε αγελαδινό γάλα , μητρικό γάλα βρεφική κρέμα. Τα αποτελέσματα που βλέπουμε παρακάτω για τις περισσότερες ενώσεις κυμαίνονται από 80% με 120% και βλέπουμε πόσο συνέβαλε στα αποτελέσματα ως προς την πιστότητα και την εκλεκτικότητα της μεθόδου όπως αυτή αποτυπώνεται με το χρωματογράφημα με την καθαρότητα των σημάτων , μέσω της σύγκρισης των τυφλών και εμπλουτισμένων δειγμάτων μήτρας .



Σχήμα 21: Αποτελέσματα εκλεκτικότητας μέσω σύγκρισης τυφλού δείγματος και δείγματα εμπλουτισμένα με PFAS (Abafi et al., 2021, Molecules, CC BY 4.0 Open Access)

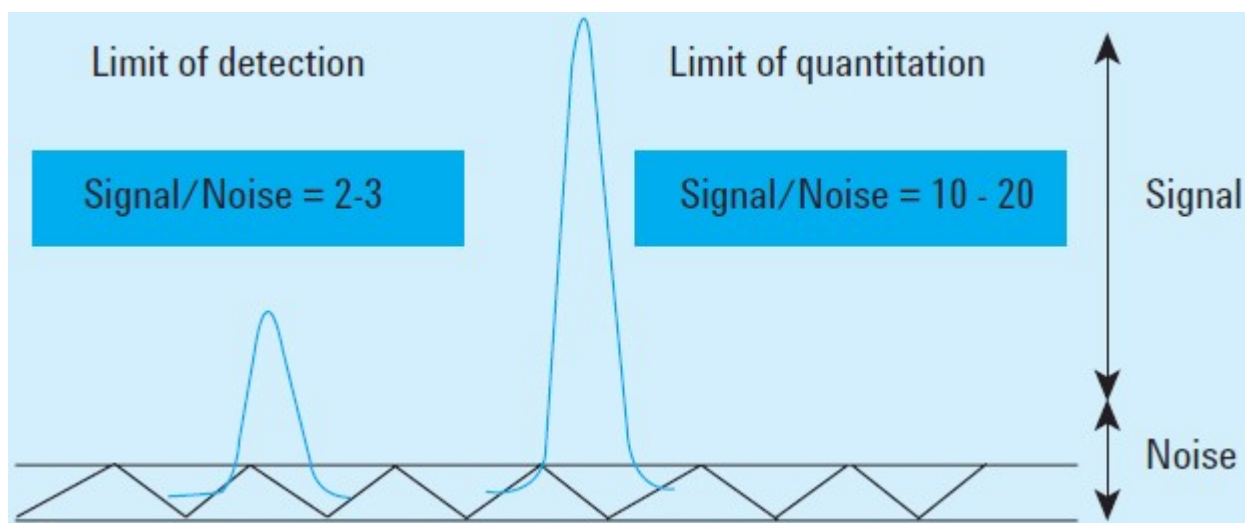
6.7.4 Ακρίβεια

Η ακρίβεια (precision) αναφέρεται στον βαθμό συμφωνίας μεταξύ ανεξάρτητων αναλυτικών αποτελεσμάτων που λαμβάνονται υπό προκαθορισμένες συνθήκες και εκφράζεται συνήθως ως σχετική τυπική απόκλιση (%RSD). Η αξιολόγησή της πραγματοποιείται σε δύο επίπεδα. Το πρώτο είναι η επαναληψιμότητα (Repeatability, RSD_r), η οποία εκφράζει τη διακύμανση των αποτελεσμάτων όταν οι αναλύσεις πραγματοποιούνται υπό ακριβώς τις ίδιες συνθήκες, δηλαδή από τον ίδιο αναλυτή, με το ίδιο όργανο και σε σύντομο χρονικό διάστημα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η ανάλυση πολλαπλών επαναλήψεων ενός εμπλουτισμένου δείγματος κατά την ίδια ημέρα (n>6 ή n=6). Το δεύτερο επίπεδο είναι η ενδιάμεση πιστότητα ή αναπαραγωγιμότητα (Intermediate Precision, RSD_R), η οποία αξιολογεί τη διακύμανση των αποτελεσμάτων εντός του ίδιου εργαστηρίου όταν μεταβάλλονται παράγοντες όπως η ημέρα ανάλυσης, ο αναλυτής ή η παρτίδα των αντιδραστηρίων για αυτό είναι σημαντικό για τα γαλακτοκομικά προϊόντα λόγω διακυμάνσεων στη σύσταση του υποστρώματος τα οποία θα επηρεάσουν το στάδιο της εκχύλισης. Σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2022/1428 της Ευρωπαϊκής Επιτροπής για τον έλεγχο των ενώσεων σε τρόφιμα και πιο συγκεκριμένα στα γαλακτοκομικά προϊόντα για τις περισσότερες εφαρμογές προσδιορισμού PFAS, τιμές RSD_r και RSD_R απαιτείται να είναι μικρότερες ή ίσες του 20% για να θεωρούνται πλήρως αποδεκτές και ικανοποιητικές (European Commission, 2022; Powley et al., 2005).

6.7.5 Όρια Ανίχνευσης και Ποσοτικοποίησης

Το όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LOD) και το όριο ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification, LOQ) καθορίζουν τις ελάχιστες συγκεντρώσεις PFAS που μπορούν να ανιχνευθούν ή να ποσοτικοποιηθούν με αποδεκτό βαθμό στατιστικής αξιοπιστίας. Το LOD υπολογίζεται συνήθως με βάση τον λόγο σήματος προς θόρυβο ($S/N = 3$, signal to noise), ενώ το LOQ αντιστοιχεί συνήθως σε λόγο $S/N = 10$. Εναλλακτικά, τα όρια αυτά μπορούν να προσδιοριστούν μέσω της τυπικής απόκλισης που προκύπτει από επαναλαμβανόμενες αναλύσεις τυφλών δειγμάτων μεθόδου. Η συνεχώς αυξανόμενη απαίτηση για ανίχνευση PFAS σε εξαιρετικά χαμηλά επίπεδα, η οποία συνδέεται με τη θέσπιση αυστηρών νομοθετικών ορίων στην Ευρωπαϊκή Ένωση [Κανονισμός (ΕΕ) 2022/2388], έχει οδηγήσει στην ανάγκη οι μέθοδοι που εφαρμόζονται στο γάλα να επιτυγχάνουν όρια ποσοτικοποίησης της τάξης των ≤ 0.01 – 0.05 ng/g (ή ng/mL). Με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζεται η απαιτούμενη ευαισθησία για την αποτελεσματική προστασία της δημόσιας υγείας (Berendsen et al., 2020; European Union, 2022).

Σύμφωνα με όσο αφορά τις ενώσεις PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα, κατέσται απαραίτητο να επιτευχθούν πολύ χαμηλά επίπεδα ποσοτικοποίησής (LOQ), με την Ευρωπαϊκή Ένωση να θεωρεί κατάλληλο το όριο της ποσοτικοποίησης για κάθε μεμονωμένο PFAS πρέπει να είναι ίσο ή χαμηλότερο από το ένα πέμπτο του μέγιστου επιτρεπόμενου επιπέδου. Συγκεκριμένα για το γάλα η ανίχνευση χρειάζεται να κυμαίνεται μεταξύ 0,002 και 0,003 νανογραμμάρια ανά γραμμάριο για κάθε ουσία για να θεωρείται ότι μπορεί να διασφαλιστεί αποτελεσματικά η δημόσια υγεία (Berendsen et al., 2020 ; Sadia et al., 2023)



Σχήμα 22: Προσδιορισμός των ορίων ανίχνευσης (LOD) και ποσοτικοποίησης (LOQ) βάσει της σχέσης σήματος προς το υπόβαθρο θορύβου (signal to noise Ratio) (Ravisankar et al.,2021, Open Access)

6.7.6 Αξιολόγηση των Φαινομένων Μήτρας (Matrix Effects) ως Παράμετρος Επικύρωσης

Στα γαλακτοκομικά προϊόντα, η διαδικασία επικύρωσης επηρεάζεται άμεσα από την πολυπλοκότητα της μήτρας. Η παρουσία πρωτεϊνών, λιπιδίων και άλλων οργανικών συστατικών μπορεί να προκαλέσει φαινόμενα καταστολής ή ενίσχυσης του σήματος κατά τη φασματομετρική ανίχνευση, επηρεάζοντας σημαντικά την ποσοτική αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Για τον λόγο αυτό, η συστηματική αξιολόγηση των matrix effects (ME), καθώς και η τεκμηρίωση της σταθερότητάς τους, αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της διαδικασίας επικύρωσης μιας μεθόδου. Η διακύμανση των φαινομένων μήτρας μεταξύ διαφορετικών παρτίδων γάλακτος πρέπει να ελέγχεται συστηματικά, ενώ η ικανότητα της μεθόδου να αντισταθμίζει τις επιδράσεις αυτές αποδεικνύεται μέσω της επιτυχούς εφαρμογής ισοτοπικά επισημασμένων εσωτερικών προτύπων και βαθμονόμησης σε προσομοιωμένη μήτρα (matrix-matched calibration) (Kärrman et al., 2006; Trimmel et al., 2021).

6.8 Διασφάλιση και Έλεγχος Ποιότητας

Η ανάλυση PFAS σε επίπεδα ιχνοποσοτήτων συνοδεύεται από μία ιδιαίτερη αναλυτική πρόκληση, η οποία σχετίζεται με την εκτεταμένη παρουσία αυτών των ενώσεων στο εργαστηριακό περιβάλλον. Η λεγόμενη επιμόλυνση υποβάθρου (background contamination) αποτελεί σημαντική πηγή σφάλματος, καθώς ενώσεις όπως το PFOA και το PFOS απαντώνται σε πληθώρα εργαστηριακών αναλωσίμων και εξαρτημάτων, όπως σωληνάρια από PTFE (Teflon), φίλτρα, πλαστικά πώματα, αλλά ακόμη και σε εσωτερικά τμήματα των συστημάτων HPLC. Ως αποτέλεσμα, η εφαρμογή ενός αυστηρού πρωτοκόλλου Διασφάλισης και Ελέγχου Ποιότητας (Quality Assurance/Quality Control, QA/QC) θεωρείται απαραίτητη προϋπόθεση για την παραγωγή αξιόπιστων και αναπαραγωγίμων αποτελεσμάτων (Taniyasu et al., 2005).

Βασικό στοιχείο του συστήματος ποιοτικού ελέγχου αποτελεί η συστηματική χρήση και αξιολόγηση τυφλών δειγμάτων (blanks). Σε κάθε σειρά αναλύσεων (batch), για παράδειγμα ανά δέκα δείγματα, είναι απαραίτητο να συμπεριλαμβάνονται τόσο τυφλά δείγματα μεθόδου (procedural ή method blanks) όσο και τυφλά δείγματα οργάνου (instrument blanks). Τα τυφλά δείγματα μεθόδου αποτελούνται συνήθως από καθαρό αντιδραστήριο, όπως υπερκάρθαρο νερό, το οποίο υποβάλλεται ακριβώς στην ίδια διαδικασία εκχύλισης, καθαρισμού και ανάλυσης με τα πραγματικά δείγματα. Με τον τρόπο αυτό καθίσταται δυνατός ο εντοπισμός πιθανών πηγών επιμόλυνσης που προέρχονται από τους διαλύτες, τα αναλώσιμα ή τον εργαστηριακό εξοπλισμό. Ταυτόχρονα, τα τυφλά δείγματα οργάνου πραγματοποιούνται μέσω έγχυσης καθαρού διαλύτη, όπως μεθανόλης, μεταξύ διαδοχικών αναλύσεων, προκειμένου να επιβεβαιωθεί η απουσία φαινομένων μεταφοράς αναλύτη από προηγούμενη έγχυση (carry-over effect). Για να θεωρείται αποδεκτός ο ποιοτικός έλεγχος, οι συγκεντρώσεις PFAS στα τυφλά δείγματα μεθόδου πρέπει να παραμένουν σταθερές και να βρίσκονται αυστηρά κάτω από το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) της μεθόδου, συνήθως σε επίπεδα μικρότερα από το 10% του LOQ (Kärtrman et al., 2021).

Εξίσου σημαντικό στοιχείο της διασφάλισης ποιότητας είναι η χρήση ισοτοπικά επισημασμένων εσωτερικών προτύπων (isotopic internal standards). Η μέθοδος αραίωσης ισοτόπων (isotope dilution) θεωρείται η πλέον αξιόπιστη και επιστημονικά τεκμηριωμένη προσέγγιση για την αντιστάθμιση τόσο των απωλειών που μπορεί να προκύψουν κατά τη

διαδικασία εκχύλισης όσο και των φαινομένων μήτρας που επηρεάζουν τον ιονισμό στην πηγή ESI (Matuszewski et al., 2003). Για τον σκοπό αυτό, πριν από οποιοδήποτε στάδιο επεξεργασίας προστίθεται στο δείγμα γνωστή ποσότητα ισοτοπικά επισημασμένων προτύπων με άνθρακα όπως, ^{13}C -PFAS ή δευτέριο (^2H -PFAS), όπως τα $^{13}\text{C}_4$ -PFOA και $^{13}\text{C}_4$ -PFOS. Επειδή τα ισοτοπικά ανάλογα εμφανίζουν τις ίδιες φυσικοχημικές ιδιότητες και τον ίδιο χρόνο έκλουσης με τους φυσικούς αναλυτές, υφίστανται τις ίδιες ακριβώς απώλειες κατά την προετοιμασία του δείγματος και την ίδια καταστολή ή ενίσχυση σήματος κατά τον ιονισμό. Ως αποτέλεσμα, επιτρέπεται η αυτόματη διόρθωση (normalization) των τελικών αποτελεσμάτων και βελτιώνεται σημαντικά η ακρίβεια της ποσοτικοποίησης (Sadia et al., 2023). Συγχρόνως, για την επαλήθευση της ακρίβειας και της μακροχρόνιας σταθερότητας της μεθόδου είναι απαραίτητη η τακτική ανάλυση Πιστοποιημένων Υλικών Αναφοράς (Certified Reference Materials, CRMs). Τα υλικά αυτά διαθέτουν επαληθευμένες συγκεντρώσεις PFAS και χρησιμοποιούνται ως ανεξάρτητο μέσο ελέγχου της ορθότητας των αποτελεσμάτων που παράγει το εργαστήριο. Συνήθως πρόκειται για υλικά με μήτρα γάλακτος ή βιολογικών ιστών, τα οποία παρέχονται από διεθνώς αναγνωρισμένους οργανισμούς, όπως το National Institute of Standards and Technology (NIST) ή το Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM). Η συστηματική ανάλυση των CRMs επιτρέπει την επιβεβαίωση ότι η μέθοδος παραμένει ακριβής και αξιόπιστη σε βάθος χρόνου και συμβάλλει ουσιαστικά στη συνολική τεκμηρίωση της ποιότητας των αναλυτικών αποτελεσμάτων (Plumlee et al., 2020).

7. Προκλήσεις και Περιορισμοί

Η επικύρωση (validation) των αναλυτικών μεθόδων αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα στάδια για την αξιόπιστη ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των υπερφθοριωμένων και πολυφθοριωμένων αλκυλιωμένων ενώσεων (PFAS) στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Δεδομένου ότι οι PFAS ανιχνεύονται συνήθως σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις, συχνά σε επίπεδα ιχνοποσοτήτων της τάξης των ng/kg (ppt) ή ng/L, η αναλυτική μέθοδος οφείλει να αποδεικνύει επαρκή ευαισθησία, εκλεκτικότητα, πιστότητα και ακρίβεια. Μόνο υπό αυτές τις προϋποθέσεις τα αποτελέσματα μπορούν να θεωρηθούν αξιόπιστα, συγκρίσιμα μεταξύ διαφορετικών εργαστηρίων και κατάλληλα για τον σκοπό για τον οποίο προορίζονται (fitness for purpose) (Kärman et al., 2006). Η διαδικασία της επικύρωσης πραγματοποιείται σύμφωνα με διεθνώς

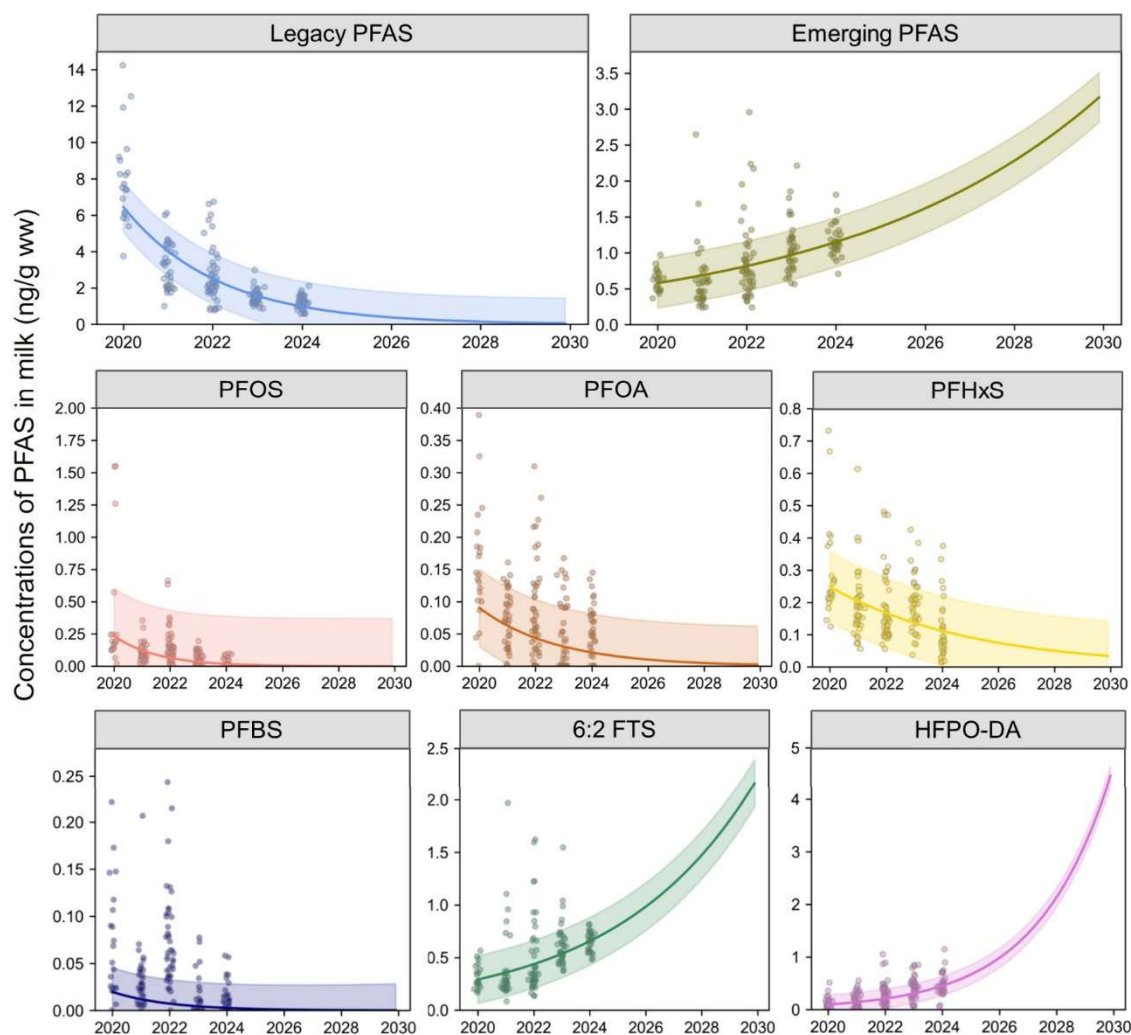
αναγνωρισμένα πρότυπα και κατευθυντήριες οδηγίες, όπως ο οδηγός SANTE της Ευρωπαϊκής Επιτροπής και οι εξειδικευμένες προδιαγραφές του Ευρωπαϊκού Εργαστηρίου Αναφοράς για τους Έμμονους Οργανικούς Ρυπούς (EURL-POP) (European Commission, 2021). Στο πλαίσιο αυτό αξιολογούνται μια σειρά από κρίσιμες παραμέτρους απόδοσης, οι οποίες καθορίζουν τη συνολική αξιοπιστία της μεθόδου.

8. Συζήτηση

Η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση ανέδειξε ότι οι υπερφθοριωμένες και πολυφθοριωμένες αλκυλιωμένες ενώσεις (PFAS) αποτελούν μία ιδιαίτερα σημαντική κατηγορία αναδυόμενων περιβαλλοντικών ρύπων, με άμεση σύνδεση με την ασφάλεια τροφίμων και ειδικότερα των γαλακτοκομικών προϊόντων. Τα δεδομένα της βιβλιογραφίας επιβεβαιώνουν ότι οι PFAS ανιχνεύονται σε γάλα, τυρί και γιαούρτι σε πολλές χώρες, γεγονός που αποδεικνύει ότι η μεταφορά τους μέσω της τροφικής αλυσίδας αποτελεί πραγματικό και παγκόσμιο φαινόμενο. Παράλληλα, οι μεγάλες διαφοροποιήσεις που παρατηρούνται μεταξύ των μελετών δείχνουν ότι η παρουσία PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα επηρεάζεται από πολλούς περιβαλλοντικούς, γεωγραφικούς και αναλυτικούς παράγοντες. Οι διαθέσιμες μελέτες συμφωνούν ότι η κύρια πηγή εισόδου PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι η περιβαλλοντική ρύπανση. Η παρουσία PFAS στο νερό, στο έδαφος και στις ζωοτροφές οδηγεί σε έκθεση των παραγωγικών ζώων και τελικά στη μεταφορά των ενώσεων στο γάλα. Οι Kowalczyk et al. (2013) απέδειξαν πειραματικά ότι PFAS όπως PFOS και PFOA μπορούν να μεταφερθούν από μολυσμένες ζωοτροφές στο αίμα και στο γάλα αγελάδων. Αντίστοιχα, οι Barbarossa et al. (2014) κατέγραψαν παρουσία PFAS σε αγελαδινό γάλα στην Ιταλία, ενώ οι Sznajder-Katarzyńska et al. (2019) ανέφεραν PFAS σε διάφορα γαλακτοκομικά προϊόντα, επιβεβαιώνοντας ότι τα τρόφιμα αυτά συμβάλλουν στη συνολική διατροφική έκθεση του ανθρώπου.

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε μία έρευνα μεταξύ 2020 έως το 2024 των Xiamin Li (2025), μία πενταετής μελέτη, όπου διερευνήθηκαν 15 χώρες υποδεικνύοντας την ευρεία γεωγραφική τους εμφάνιση των ενώσεων αυτών. Με βάση την έρευνα αυτή, οι συγκεντρώσεις των παλαιών PFAS μειώθηκαν σημαντικά με ποσοστό 85,9%, ενώ διαπίστωσαν ότι τα αναδυόμενα PFAS (όπως το διμερές εξαφθοροπροπυλένιο HFDO-DA και τα σουλφονικά οξέα

φθοροτελομερούς 6:2) αυξήθηκαν . Στην ίδια έρευνα , με την χρήση τριών διαφορετικών μοντέλων ανάλυσης πρόβλεψαν ότι μέχρι και το 2030 την αύξηση των αναδυόμενων ενώσεων PFAS όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα .



Σχήμα 23: Σύμφωνα με την μελέτη των Xiamin Li (2025) , απεικονίζεται μια πρόβλεψη χρονικής τάσης του PFAS στο γάλα , environmental Science & Technology , ACS)

Η σύγκριση των βιβλιογραφικών δεδομένων δείχνει επίσης ότι οι συγκεντρώσεις PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα επηρεάζονται σημαντικά από την περιοχή παραγωγής και το επίπεδο περιβαλλοντικής επιβάρυνσης. Περιοχές κοντά σε βιομηχανικές εγκαταστάσεις, χώρους χρήσης πυροσβεστικών αφρών ή μολυσμένα υδάτινα συστήματα εμφανίζουν συχνά υψηλότερα επίπεδα PFAS. Την ίδια στιγμή, η διαφορετική συμπεριφορά των επιμέρους PFAS ενώσεων επηρεάζει τη μεταφορά και τη βιοσυσσώρευσή τους. Οι long-chain PFAS εμφανίζουν

μεγαλύτερη τάση βιοσυσώρευσης, ενώ οι short-chain ενώσεις παρουσιάζουν μεγαλύτερη κινητικότητα στο περιβάλλον.

Ιδιαίτερα σημαντική είναι η αξιολόγηση των αναλυτικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό PFAS. Η LC-MS/MS αναδείχθηκε ως η σημαντικότερη τεχνική target analysis λόγω της υψηλής ευαισθησίας, της επιλεκτικότητας και της δυνατότητας ταυτόχρονου προσδιορισμού πολλών ενώσεων σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Οι Hill et al. (2022), Yu et al. (2015) και Shi et al. (2023) έδειξαν ότι οι σύγχρονες LC-MS/MS μέθοδοι μπορούν να επιτύχουν ιδιαίτερα χαμηλά όρια ανίχνευσης σε γαλακτοκομικά προϊόντα, ακόμη και σε πολύπλοκα matrices όπως το γάλα και το γιαούρτι. Η χρήση isotope-labelled internal standards και κατάλληλων διαδικασιών cleanup συμβάλλει σημαντικά στη βελτίωση της ακρίβειας και της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων.

Παρά τα θετικά της LC-MS/MS, η βιβλιογραφία ανέδειξε και σημαντικούς περιορισμούς. Η target analysis επιτρέπει μόνο την ανίχνευση γνωστών PFAS ενώσεων για τις οποίες υπάρχουν διαθέσιμα standards. Ωστόσο, σήμερα είναι γνωστές χιλιάδες PFAS ενώσεις, πολλές από τις οποίες δεν μπορούν να προσδιοριστούν με συμβατικές τεχνικές. Για τον λόγο αυτό, οι HRMS τεχνικές και τα non-target ή suspect screening approaches αποκτούν ολοένα μεγαλύτερη σημασία. Οι Koch et al. (2020) υποστήριξαν ότι η χρήση Orbitrap και TOF-MS επιτρέπει την ανίχνευση άγνωστων (unknown) και αναδυόμενων (emerging)PFAS, τα οποία ενδέχεται να συμβάλλουν σημαντικά στη συνολική έκθεση του ανθρώπου.

Χώρα Έρευνας	PFAS που Ανιχνεύθηκαν	Τρόπος Εκχύλισης	Καθαρισμός Μήτρας	Μέθοδος Ανάλυσης	Αναφορές
--------------	-----------------------	------------------	-------------------	------------------	----------

ΗΠΑ Αγελαδινό Γάλα (επεξεργασμένο και μη γάλα)	Legacy PFAS (PFOS, PFOA, PFHxS, PFNA) και emerging PFAS	Συνδυασμός όξινης και βασικής εκχύλισης	ENVI Carb	LC-MS/MS	Hill et al.,(2022)
Ελβετία (Σκόνη γάλακτος, βρεφικά γάλατα)	PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS	ACN/H ₂ O	SPE	LC-MS/MS με ισοτοπική αραίωση	(Theurillat et al., 2023)
Πολωνία (Γάλα, γιαούρτι, βούτυρο, κεφίρ)	PFBA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFBS, PFHxS, PFOS	QuEChERS	Καθαρισμός QuEChERS (dSPE)	micro-HPLC-MS/MS	(Sznajder-Katarzyńska et al., 2019)

Πίνακας 3 : Συγκέντρωση διάφορων βιβλιογραφικών αναφορών για τις ενώσεις PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα.

Σημαντικό ρόλο στη σύγχρονη ανάλυση PFAS φαίνεται να διαδραματίζουν και οι total fluorine methods, όπως το Extractable Organic Fluorine (EOF) και το Combustion Ion Chromatography (CIC). Οι McDonough et al. (2019) ανέφεραν ότι σημαντικό μέρος του οργανικού φθορίου σε περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα δεν μπορεί να εξηγηθεί από τις γνωστές PFAS ενώσεις που ανιχνεύονται με LC-MS/MS. Αντίστοιχα, οι Aro et al. (2021) έδειξαν ότι οι CIC μέθοδοι

επιτρέπουν την εκτίμηση της συνολικής οργανικής φθοριωμένης επιβάρυνσης, ακόμη και όταν δεν είναι γνωστή η χημική ταυτότητα όλων των ενώσεων.

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που αναδείχθηκαν στη βιβλιογραφία είναι οι δυσκολίες ανάλυσης των PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα λόγω της πολυπλοκότητας των matrices. Το γάλα και τα παράγωγά του περιέχουν μεγάλες ποσότητες λιπαρών, πρωτεϊνών και άλλων οργανικών συστατικών που προκαλούν έντονα matrix effects και επηρεάζουν την ιοντοποίηση κατά τη φασματομετρία μάζας. Οι Sun et al. (2020) υπογράμμισαν ότι η αποτελεσματική απολίπανση και ο σωστός καθαρισμός του δείγματος είναι απαραίτητοι για τη μείωση των παρεμβολών και τη βελτίωση της αναλυτικής απόδοσης. Παράλληλα, η πιθανότητα επιμόλυνσης από εργαστηριακά υλικά που περιέχουν PFAS αποτελεί σοβαρή πρόκληση στις αναλύσεις επιπέδου ιχνών.

Η βιβλιογραφική ανασκόπηση ανέδειξε επίσης σημαντικά κενά γνώσης. Οι περισσότερες διαθέσιμες μελέτες επικεντρώνονται κυρίως σε legacy PFAS όπως το PFOS και το PFOA, ενώ υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα για emerging και short-chain PFAS. Επιπλέον, υπάρχουν λίγες πληροφορίες σχετικά με τη συμπεριφορά αυτών των ενώσεων σε διαφορετικά γαλακτοκομικά προϊόντα και σχετικά με τη χρόνια διατροφική έκθεση μέσω καθημερινής κατανάλωσης. Οι Wang et al. (2017) και Glüge et al. (2020) ανέδειξαν ότι η συνεχής ανάπτυξη νέων PFAS δημιουργεί σοβαρές προκλήσεις για την επιστημονική κοινότητα και τα κανονιστικά πλαίσια. Η ανάγκη ανάπτυξης πιο ολοκληρωμένων αναλυτικών στρατηγικών που θα συνδυάζουν target, suspect και non-target approaches θεωρείται πλέον απαραίτητη. Τέλος, η συνεχής βελτίωση των HRMS τεχνικών και των total fluorine methods αναμένεται να συμβάλει σημαντικά στην καλύτερη κατανόηση της πραγματικής PFAS επιβάρυνσης στα γαλακτοκομικά προϊόντα και στο περιβάλλον γενικότερα.

9. Συμπεράσματα

Η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση κατέδειξε ότι οι υπερφθοριωμένες και πολυφθοριωμένες αλκυλιωμένες ενώσεις (PFAS) αποτελούν μία ιδιαίτερα σημαντική κατηγορία περιβαλλοντικών ρύπων με σοβαρές προεκτάσεις για την ασφάλεια τροφίμων και τη δημόσια υγεία. Η εξαιρετική χημική και θερμική σταθερότητα των PFAS, σε συνδυασμό με τη μεγάλη περιβαλλοντική επιμονή και την ικανότητα βιοσυσσώρευσης, οδηγεί στη συνεχή παρουσία τους στο περιβάλλον και στη μεταφορά τους μέσω της τροφικής αλυσίδας. Τα

διαθέσιμα βιβλιογραφικά δεδομένα επιβεβαιώνουν ότι οι PFAS μπορούν να ανιχνευθούν σε γάλα, τυρί και γιαούρτι, γεγονός που καθιστά τα γαλακτοκομικά προϊόντα πιθανή πηγή διατροφικής έκθεσης του ανθρώπου.



Σχήμα 24: Ένας συλλογικός χάρτης με βάση συλλογικές μελέτες για τις συγκεντρώσεις επιλεγμένων ενώσεων PFAS σε δείγματα γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων σε 4 διαφορετικούς Ηπείρους . (Khanashyam et al., 2025)

Η παρουσία PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα σχετίζεται κυρίως με την περιβαλλοντική ρύπανση, τη μόλυνση των ζωοτροφών και του νερού, καθώς και με τη βιοσυσσωρευση στους οργανισμούς των παραγωγικών ζώων. Οι μελέτες των Kowalczyk et al. (2013), Barbarossa et al. (2014) και Sznajder-Katarzyńska et al. (2019) επιβεβαίωσαν ότι οι PFAS μπορούν να μεταφερθούν αποτελεσματικά από το περιβάλλον στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Η βιβλιογραφία έδειξε ακόμη ότι οι συγκεντρώσεις PFAS επηρεάζονται σημαντικά από την περιοχή παραγωγής, τις συνθήκες εκτροφής και τη χημική δομή των επιμέρους ενώσεων. Η LC-MS/MS αναδείχθηκε ως η σημαντικότερη και πιο αξιόπιστη αναλυτική τεχνική για τον προσδιορισμό γνωστών PFAS σε γαλακτοκομικά προϊόντα. Η τεχνική αυτή προσφέρει υψηλή ευαισθησία, μεγάλη επιλεκτικότητα και δυνατότητα ταυτόχρονου προσδιορισμού πολλών

ενώσεων σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Οι Hill et al. (2022), Shi et al. (2023) και Genualdi et al. (2021) απέδειξαν ότι οι σύγχρονες LC-MS/MS μέθοδοι μπορούν να επιτύχουν πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης ακόμη και σε σύνθετα matrices όπως το γάλα. Η χρήση triple quadrupole συστημάτων, electrospray ionization και isotope-labelled internal standards συμβάλλει σημαντικά στη βελτίωση της ακρίβειας και της αξιοπιστίας των αναλύσεων.

Επιπροσθέτως, η παρούσα ανασκόπηση ανέδειξε τη μεγάλη σημασία των total fluorine methods, όπως το Extractable Organic Fluorine (EOF) και το Combustion Ion Chromatography (CIC). Οι μέθοδοι αυτές επιτρέπουν την εκτίμηση της συνολικής οργανικής φθοριωμένης επιβάρυνσης και είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για την ανίχνευση unknown και emerging PFAS που δεν μπορούν να προσδιοριστούν με συμβατικές target τεχνικές. Οι McDonough et al. (2019) και Aro et al. (2021) έδειξαν ότι σημαντικό μέρος του οργανικού φθορίου σε περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα δεν μπορεί να αποδοθεί στις γνωστές PFAS ενώσεις, γεγονός που δείχνει την ανάγκη χρήσης πιο ολοκληρωμένων αναλυτικών προσεγγίσεων. Η ανάλυση PFAS σε γαλακτοκομικά προϊόντα παρουσιάζει σημαντικές δυσκολίες λόγω των έντονων matrix effects. Η υψηλή περιεκτικότητα του γάλακτος και των παραγώγων του σε πρωτεΐνες και λιπαρά προκαλεί παρεμβολές κατά την εκχύλιση και τη φασματομετρική ανάλυση. Για τον λόγο αυτό, η σωστή προετοιμασία των δειγμάτων, η απολίπανση και οι αποτελεσματικές διαδικασίες cleanup αποτελούν κρίσιμα στάδια της αναλυτικής διαδικασίας. Οι Yu et al. (2015) και Sun et al. (2020) έδειξαν ότι τεχνικές όπως QuEChERS, SPE και κατάλληλες διαδικασίες protein precipitation βελτιώνουν σημαντικά την αναλυτική απόδοση και μειώνουν τις παρεμβολές.

Η βιβλιογραφική ανασκόπηση ανέδειξε επίσης σημαντικά επιστημονικά κενά. Οι περισσότερες διαθέσιμες μελέτες επικεντρώνονται κυρίως σε legacy PFAS όπως PFOS και PFOA, ενώ υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα για emerging PFAS και short-chain ενώσεις. Από την παραπάνω ανάλυση φάνηκε επίσης πως δεν υπάρχουν ακόμη επαρκείς πληροφορίες σχετικά με τη χρόνια διατροφική έκθεση μέσω γαλακτοκομικών προϊόντων και σχετικά με τις πιθανές μακροχρόνιες επιπτώσεις των νέων PFAS ενώσεων στην ανθρώπινη υγεία. Οι μελλοντικές ερευνητικές προσεγγίσεις θα πρέπει να επικεντρωθούν στην ανάπτυξη πιο ολοκληρωμένων και ευαίσθητων αναλυτικών στρατηγικών. Η συνδυαστική χρήση LC-MS/MS, HRMS, EOF και CIC θεωρείται ιδιαίτερα σημαντική για την καλύτερη κατανόηση της συνολικής PFAS επιβάρυνσης. Έτσι, απαιτούνται περισσότερες μελέτες σχετικά με τη

συμπεριφορά των emerging PFAS στα γαλακτοκομικά προϊόντα, τη μεταφορά τους μέσω της τροφικής αλυσίδας και τη χρόνια ανθρώπινη έκθεση.

Βιβλιογραφία

1. Aro, R., Eriksson, U., Kärman, A., Reber, I., & Yeung, L. W. Y. (2021). Combustion ion chromatography for extractable organofluorine analysis. *iScience*, 24(9), 102968.
2. Barbarossa, A., Gazzotti, T., Zironi, E., Serraino, A., & Pagliuca, G. (2014). Short communication: Monitoring the presence of perfluoroalkyl substances in Italian cow milk. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3339–3343.
3. Berendsen, B. J. A., et al. (2020). The analysis of perfluoroalkyl substances at ppt level in milk and egg using UHPLC-MS/MS. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 37(10), 1697–1707.
4. Berger, U., Glynn, A., Holmström, K. E., Berglund, M., Ankarberg, E. H., & Törnkvist, A. (2011). Fish consumption as a source of human exposure to perfluorinated alkyl substances in Sweden – Analysis of edible fish from Lake Vättern and the Baltic Sea. *Chemosphere*, 82(2), 317–322.
5. Shi, X., et al. (2024). Reproductive toxicity of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) and their alternatives: Human exposure and health risks. *Environmental Pollution*, 340, Article 123456. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123456>
6. Ghanshyam, et al. (2025). Occurrence, bioaccumulation, and health risks of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in the dairy supply chain. *Trends in Food Science & Technology*, 155, Article 104800. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104800>
7. Buck, R. C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J. M., Cousins, I. T., de Voogt, P., Jensen, A. A., Kannan, K., Mabury, S. A., & van Leeuwen, S. P. J. (2011). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: Terminology, classification, and origins. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 7(4), 513–541.

8. Cousins, I. T., Goldenman, G., Herzke, D., Lohmann, R., Miller, M., Ng, C. A., Patton, S., Scheringer, M., Trier, X., Vierke, L., Wang, Z., & DeWitt, J. C. (2019). The concept of essential use for determining when uses of PFASs can be phased out. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 21(11), 1803–1815.
9. Curci, D., et al. (2025). What We Know About Per- and Polyfluoroalkyl Contamination Levels in Milk. *Foods*, 14(13), 2274.
10. Domingo, J. L., & Nadal, M. (2017). Per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in food and human dietary intake: A review of the recent scientific literature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(3), 533–543.
11. EFSA CONTAM Panel, Schrenk, D., Bignami, M., Bodin, L., Chipman, J. K., del Mazo, J., Grasl-Kraupp, B., Hogstrand, C., Hoogenboom, L. R., Leblanc, J.-C., Nebbia, C. S., Nielsen, E., Ntzani, E., Petersen, A., Sand, S., Vleminckx, C., Wallace, H., Barregård, L., Ceccatelli, S., ... Schwerdtle, T. (2020). Risk to human health related to the presence of perfluoroalkyl substances in food. *EFSA Journal*, 18(9), e06223.
12. Alukkal, C. R., Modiri, M., Alvarez Ruiz, R., Choi, Y. J., & Lee, L. S. (2025). Evaluation of PFAS extraction and analysis methods for biosolids. *Talanta*, 286, Article 127485.
13. Ericson Jogsten, I., Nadal, M., van Bavel, B., Lindström, G., & Domingo, J. L. (2012). Per- and polyfluorinated compounds (PFCs) in house dust and indoor air in Catalonia, Spain: Implications for human exposure. *Environment International*, 39(1), 172–180.
14. Fromme, H., Tittlemier, S. A., Völkel, W., Wilhelm, M., & Twardella, D. (2009). Perfluorinated compounds – Exposure assessment for the general population in western countries. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 212(3), 239–270.
15. Genualdi, S., Beekman, J., Carlos, K., Fisher, C. M., Young, W., DeJager, L., & Begley, T. (2022). Analysis of per- and poly-fluoroalkyl substances (PFAS) in processed foods from FDA’s Total Diet Study. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 414, 1189–1199.
16. Genualdi, S., Young, W., DeJager, L., & Begley, T. (2021). Method development and validation of per- and polyfluoroalkyl substances in foods from FDA’s Total Diet Study Program. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(20), 5599–5606.
17. Journal of Analytical Science and Technology. (2023). *Schematic principles of liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)*. Journal of Analytical Science and Technology

18. Boja, E. S., & Rodriguez, H. (2011). Analytical validation considerations for assay development using multiple reaction monitoring mass spectrometry. *Methods*, 56(2), 293–303.
19. Glüge, J., Scheringer, M., Cousins, I. T., DeWitt, J. C., Goldenman, G., Herzke, D., Lohmann, R., Ng, C. A., Trier, X., & Wang, Z. (2020). An overview of the uses of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS). *Environmental Science: Processes & Impacts*, 22(12), 2345–2373.
20. Guerranti, C., Perra, G., Corsolini, S., & Focardi, S. E. (2013). Pilot study on levels of perfluorinated compounds in milk, yogurt, and cheese from Italy. *Food Chemistry*, 140(1–2), 197–203.
21. Ravisankar, P., Pentyala, A., & Sai, C. B. (2021). Validation characteristics and statistics in analytical method development. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 12(7), 3500–3512.
22. Herzke, D., Olsson, E., & Posner, S. (2012). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in consumer products in Norway – A pilot study. *Chemosphere*, 88(8), 980–987.
23. Hill, N. I., Becanova, J., & Lohmann, R. (2022). A sensitive method for the detection of legacy and emerging per- and polyfluorinated alkyl substances (PFAS) in dairy milk. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 414, 1235–1243.
24. Kärman, A., Ericson, I., van Bavel, B., Darnerud, P. O., Aune, M., Glynn, A., Lignell, S., & Lindström, G. (2007). Exposure of perfluorinated chemicals through lactation: Levels of matched human milk and serum and a temporal trend, 1996–2004, in Sweden. *Environmental Health Perspectives*, 115(2), 226–230.
25. Koch, A., Aro, R., Wang, T., & Yeung, L. W. Y. (2020). Towards a comprehensive analytical workflow for the chemical characterisation of organofluorine in consumer products and environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 123, 115423.
26. Kowalczyk, J., Ehlers, S., Oberhausen, A., Tischer, M., Fürst, P., Schafft, H., & Lahrssen-Wiederholt, M. (2013). Absorption, distribution, and milk secretion of the perfluoroalkyl acids PFBS, PFHxS, PFOS, and PFOA by dairy cows fed naturally contaminated feed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(12), 2903–2912.

27. Kwiatkowski, C. F., Andrews, D. Q., Birnbaum, L. S., Bruton, T. A., DeWitt, J. C., Knappe, D. R. U., Maffini, M. V., Miller, M. F., Pelch, K. E., Reade, A., Soehl, A., Trier, X., Venier, M., Wagner, C. C., Wang, Z., & Blum, A. (2020). Scientific basis for managing PFAS as a chemical class. *Environmental Science & Technology Letters*, 7(8), 532–543.
28. McDonough, C. A., Guelfo, J. L., & Higgins, C. P. (2019). Measuring total PFASs in water: The tradeoff between selectivity and inclusivity. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 7, 13–18.
29. Li, X., Liu, Y., Li, T., Zhao, N., Pei, X., Wang, R., Wu, M., Han, X., Liu, X., Wang, P., Fu, J., & Jiang, G. (2025). Unraveling Legacy and Emerging PFAS Characteristics in Milk across 15 Countries (2020–2024): Features, Temporal Trends, and Risk Priority. *Environmental Science & Technology*, 59(31), 16662–16674. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5c06862>
30. Sun, J., Liu, Y., Yao, L., et al. (2025). Suspect and Nontarget Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Groundwater Underlying Different Land-Use Areas. *Environmental Science & Technology*, 59(5), 2722–2731. <https://doi.org/10.1021/acs.est.4c09020>
31. Lada, Z. G., Mathioudakis, G. N., Soto-Beobide, A., Andrikopoulos, K. S., & Voyiatzis, G. A. (2024). Generic method for the detection of short and long chain PFAS extended to the lowest concentration levels of SERS capability. *Chemosphere*, 363, Article 142916. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142916>
32. Banerjee, S., & Mazumdar, S. (2012). Electrospray Ionization Mass Spectrometry: A Technique to Access the Information beyond the Molecular Weight of the Analyte. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2012, Article 282574. <https://doi.org/10.1016/j.ijac.2012.282574> / <https://doi.org/10.1155/2012/282574>
33. Miaz, L. T., Plassmann, M. M., Gyllenhammar, I., Bignert, A., Sandblom, O., Lignell, S., Glynn, A., & Benskin, J. P. (2020). Temporal trends of suspect- and target-per/polyfluoroalkyl substances (PFAS), extractable organic fluorine (EOF) and total fluorine (TF) in pooled serum from first-time mothers in Uppsala, Sweden, 1996–2017. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 22(4), 1071–1083.

34. Boja, E. S., & Rodriguez, H. (2011). Analytical validation considerations for assay development using multiple reaction monitoring mass spectrometry. *Methods*, 56(2), 293–303. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2011.03.012>
35. Noorlander, C. W., van Leeuwen, S. P. J., & te Biesebeek, J. D. (2011). Levels of perfluorinated compounds in food and dietary intake of PFOS and PFOA in the Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(13), 7496–7505.
36. Powley, C. R., George, S. W., Ryan, T. W., & Buck, R. C. (2005). Matrix effect-free analytical methods for determination of perfluorinated carboxylic acids in environmental matrixes. *Analytical Chemistry*, 77(19), 6353–6358.
37. Banerjee, S., & Mazumdar, S. (2012). Electrospray Ionization Mass Spectrometry: A Technique to Access the Information beyond the Molecular Weight of the Analyte. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2012, Article 282574.
38. OECD (2021). *Reconciling Terminology of the Universe of Per- and Polyfluoroalkyl Substances: Recommendations and Practical Guidance*, OECD Series on Risk Management, No. 61, OECD Publishing, Paris.
39. Metrohm AG. (2022). *Combustion Ion Chromatography: Fast and reliable determination of halogens and sulfur after pyrohydrolysis* (Technical Article TA-021EN). Metrohm Application Support.
40. Shi, R., Liu, L., Liu, X., Liu, Z., Liu, J., Wang, J., Di, S., Qi, P., & Wang, X. (2023). Integrated QuEChERS combined with LC–MS/MS for high-throughput analysis of per- and polyfluoroalkyl substances in milk. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 416, 203–214.
41. Stahl, T., Mattern, D., & Brunn, H. (2011). Toxicology of perfluorinated compounds. *Environmental Sciences Europe*, 23(1), 38.
42. Sun, X., Ji, W., Hou, S., & Wang, X. (2020). Facile synthesis of trifluoromethyl covalent organic framework for the efficient microextraction of per- and polyfluorinated alkyl substances from milk products. *Journal of Chromatography A*, 1623, 461197.
43. Sunderland, E. M., Hu, X. C., Dassuncao, C., Tokranov, A. K., Wagner, C. C., & Allen, J. G. (2019). A review of the pathways of human exposure to poly- and perfluoroalkyl

- substances (PFASs) and present understanding of health effects. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, 29(2), 131–147.
44. Sznajder-Katarzyńska, K., Surma, M., & Cieślík, E. (2019). The perfluoroalkyl substance (PFAS) contamination level in milk and dairy products. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 36(1), 84–92.
 45. Tittlemier, S. A., Pepper, K., Seymour, C., Moisey, J., Bronson, R., Cao, X. L., & Dabeka, R. W. (2007). Dietary exposure of Canadians to perfluorinated carboxylates and perfluorooctane sulfonate via consumption of meat, fish, fast foods, and food items prepared in their packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(8), 3203–3210.
 46. Trier, X., Granby, K., & Christensen, J. H. (2011). Polyfluorinated surfactants (PFS) in paper and board coatings for food packaging. *Environmental Science and Pollution Research*, 18(7), 1108–1120.
 47. Wang, Z., DeWitt, J. C., Higgins, C. P., & Cousins, I. T. (2017). A never-ending story of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs)? *Environmental Science & Technology*, 51(5), 2508–2518.
 48. *Journal of Analytical Science and Technology*. (2023). Principles of liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS). *Journal of Analytical Science and Technology*, SpringerOpen.
 49. Yamada, A., Bemrah, N., Veyrand, B., Pollono, C., Merlo, M., Desvignes, V., Sirot, V., Oseredczuk, M., Marchand, P., Cariou, R., Antignac, J. P., Le Bizec, B., & Leblanc, J. C. (2014). Perfluoroalkyl acid contamination and polyunsaturated fatty acid composition of French freshwater and marine fishes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(30), 7593–7603.
 50. Abafe, O. A., Macheka, L. R., & Olowoyo, J. O. (2021). Confirmatory Analysis of Per and Polyfluoroalkyl Substances in Milk and Infant Formula Using UHPLC–MS/MS. *Molecules*, 26(12), 3664. <https://doi.org/10.3390/molecules26123664>
 51. Yu, Y., Xu, D., Lu, M., Zhou, S., Peng, T., Yue, Z., & Zhou, Y. (2015). QuEChERS combined with online interference trapping LC-MS/MS method for the simultaneous determination of 20 polyfluoroalkane substances in dietary milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(16), 4087–4095.

52. Alukkal, C. R., Modiri, M., Alvarez Ruiz, R., Choi, Y. J., & Lee, L. S. (2025). Evaluation of PFAS extraction and analysis methods for biosolids. *Talanta*, 286, Article 127485. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.127485>