ΜΠΕΝΑΚΕΙΟ
ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ»

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΥΠΕΡΦΘΟΡΟΑΛΚΥΛΙΩΜΕΝΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΚΑΙ ΑΛΛΩΝ ΑΝΑΔΥΟΜΕΝΩΝ ΡΥΠΩΝ ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΓΡΑ

ΕΥΣΤΑΘΙΑ ΒΟΥΖΑΞΑΚΗ

ΛΑΡΙΣΑ 2023

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

ΜΠΕΝΑΚΕΙΟ
ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ

UNIVERSITY OF THESSALY

SCHOOL OF HEALTH SCIENCE

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY

MASTER OF SCIENCE

“TOXICOLOGY”

Master of Science Degree

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF AN ANALYTICAL METHOD FOR THE DETERMINATION OF PERFLUOROALKYLATED COMPOUNDS AND OTHER EMERGING POLLUTANTS IN BIOLOGICAL FLUIDS

EFSTATHIA VOUZAXAKI

LARISSA 2023

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΥΠΕΡΦΘΟΡΟΑΛΚΥΛΙΩΜΕΝΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΚΑΙ ΑΛΛΩΝ ΑΝΑΔΥΟΜΕΝΩΝ ΡΥΠΩΝ ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΓΡΑ

ΕΥΣΤΑΘΙΑ ΒΟΥΖΑΞΑΚΗ

Αριθμός Γενικού Μητρώου: Μ041821002

Εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτιτούτο

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: **Κασιώτης Κωνσταντίνος**

Τριμελής επιτροπή:

Κωνσταντίνος Κασιώτης, Χημικός - Ερευνητής Α’, Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων, Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο.

Δημήτριος Κουρέτας, Καθηγητής Φυσιολογίας – Τοξικολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Τσίκου Δανιέλα, Επίκουρος Καθηγήτρια Μοριακής και Αναπτυξιακής Βιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η καθημερινή έκθεση του ανθρώπου σε ένα πλήθος χημικών ουσιών οδήγησε στην ανάπτυξη της ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης. Συγκεκριμένα, αποτελεί τον τομέα που εξετάζει την ανθρώπινη έκθεση σε πληθώρα χημικών ουσιών συμπεριλαμβανομένων και των δυνητικά επικινδύνων, μέσω της ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού των μητρικών ουσιών, πιθανών μεταβολιτών τους ή και των προϊόντων αντίδρασης τους σε βιολογικά δείγματα και τις πιθανές επιπτώσεις τους. Στη συνέχεια, η παραγωγή δεδομένων που προκύπτει μέσω της βιοπαρακολούθησης χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση κινδύνου των ουσιών αυτών, ενώ παράλληλα μπορεί να συνεισφέρει στην ανάδειξη βιοδεικτών έκθεσης (biomarkers of exposure) και επίδρασης (biomarkers of effect).

Μία ομάδα χημικών ουσιών, ιδιαίτερα τοξική και εμμένουσα ως ρύπος, που χρήζει ιδιαίτερης μελέτης είναι οι υπερφθοριωμένες και πολυφθοριωμένες αλκυλιωμένες ουσίες (PFAS). Πρόκειται για συνθετικές ουσίες που εντάσσονται στους έμμονους οργανικούς ρύπους και προκαλούν βλαβερές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον. Κύρια χαρακτηριστικά τους αποτελούν η ανθεκτικότητα, η βιοσσυσώρευση, η ευκινησία και η τοξικότητα τους.

Σημαντικό ρόλο στην κατανόηση της δράσης των PFAS στον ανθρώπινο οργανισμό κατέχει η επιστήμη της τοξικοκινητικής. Πρόκειται για τη μελέτη των διεργασιών μέσω των οποίων ο οργανισμός διαχειρίζεται τις τοξικές ουσίες. Περιλαμβάνει την κατανόηση της απορρόφησης, της μεταφοράς, της βιομετατροπής και της απέκκρισης μίας χημικής ουσίας από έναν οργανισμό.

Οι ενώσεις αυτές απαντώνται σε μεγάλο πλήθος προϊόντων που είναι αλληλένδετα με την καθημερινότητα του σύγχρονου ανθρώπου όπως ιατρικά είδη, προϊόντα περιποίησης και καλλωπισμού, καθαριστικά προϊόντα και μαγειρικά και οικιακά σκεύη. Επίσης, ενδεικτικά περιέχονται σε βιοκτόνα, δομικά υλικά, σε μέσα πυρόσβεσης, εξόρυξης και στα καύσιμα. Πέρα από τη χρήση προϊόντων που περιέχουν PFAS οι άνθρωποι εκτίθενται, επίσης, καταναλώνοντας νερό και φαγητό μολυσμένο με PFAS, είτε μέσω της τροφικής αλυσίδας. Συνοπτικά, η ανθρώπινη έκθεση στα PFAS και τις πιθανές πρόδρομές τους ουσίες μπορεί να χωριστεί σε

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

τρεις κύριους τύπους: επαγγελματική έκθεση, γενική έκθεση και έκθεση από τη μητέρα στο έμβρυο ή το βρέφος.

Μέσω *in vitro* και *in vivo* μεθόδους, αξιολόγησεις και επιδημιολογικές μελέτες έχει γίνει συσχέτιση των συγκεντρώσεων των PFAS με πολλών ειδών μορφές καρκίνου, ανοσοποιητικές, αναπαραγωγικές, ενδοκρινικές και αναπτυξιακές διαταραχές. Για αυτόν τον λόγο έχει θεσπιστεί ένα αυστηρό νομοθετικό πλαίσιο και ισχύουν περιορισμοί σε παγκόσμια κλίμακα.

Λόγω των προαναφερθέντων αλλά και των συνεχώς εξελισσόμενων μέσων που αφορούν την επεξεργασία των δειγμάτων, την απομόνωση των ουσιών και την ενόργανη ανάλυση τους έχει επιτευχθεί η απομόνωση πολυάριθμων ουσιών από την ομάδα των PFAS ακόμη και από σύνθετα υποστρώματα καθώς και η ποσοτική ανίχνευση τους σε συνεχώς χαμηλότερες συγκεντρώσεις με υψηλή ακρίβεια.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανάπτυξη, η βελτιστοποίηση και η επικύρωση μίας αναλυτικής μεθόδου προσδιορισμού 17 ουσιών που υπάγονται στην ομάδα των PFAS. Πιο συγκεκριμένα, 11 υπερφθοροαλκυλικά καρβοξυλικά οξέα (PFCA) και 6 υπερφθοροαλκυλικά θειώδη οξέα (PFSA). Ο προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε σε υπόστρωμα ούρων.

Για την απομόνωση των PFAS από το βιολογικό υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της εκχύλισης στερεάς φάσης. Ο προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας συζευγμένη με διαδοχική φασματομετρία μάζας (LC-MS/MS). Κατά την ανάπτυξη και τη βελτιστοποίηση της αναλυτικής μεθόδου πραγματοποιήθηκαν αρκετά πρωτόκολλα προκατεργασίας των δειγμάτων και μελετήθηκαν οι παράμετροι της ενόργανης χημικής ανάλυσης με στόχο την εύρεση των βέλτιστων συνθηκών συνδυαστικά για όλους τους αναλύτες- στόχους συγχρόνως. Τέλος, η μέθοδος επικυρώθηκε σύμφωνα με τις απαιτήσεις διεθνών οδηγιών.

Το πειραματικό μέρος της παρούσας εργασίας έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου στην Αθήνα.

Λέξεις κλειδιά: Βιοπαρακολούθηση, PFAS, Αναλυτική Τοξικολογία, LC-MS/MS, Βιολογικά Υγρά

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

ABSTRACT

The daily exposure of humans to a plethora of chemicals has led to the development of human biomonitoring, which is the monitoring of human exposure to potentially dangerous substances (including their metabolites or reaction products in biological samples), and their potential biological effects. The data generated through biomonitoring is then used for the risk assessment of these substances and the establishment of potential biomarkers of exposure and effect.

One group of chemicals, particularly toxic and persistent as pollutants are perfluorinated and polyfluorinated alkylated substances (PFAS). These are synthetic substances that belong to persistent organic pollutants (POPs) and cause harmful effects on both humans and other organisms. Their main characteristics are persistence, bioaccumulation, mobility, and toxicity.

The science of toxicokinetics plays an important role in understanding the role of PFAS in the human body. It is the study of the processes by which the body manages toxic substances as a function of dose and time. It involves understanding the absorption, transport, biotransformation, and excretion of a chemical by an organism.

These compounds are found in many products used in modern daily life such as medical supplies, care and beauty products, cleaning products and kitchen and household utensils. Also, indicatively, they are contained in biocides, building materials, fire extinguishing agents, mining, and fuels. In addition to using products containing PFAS, people are also exposed by consuming water and food contaminated with PFAS, or through the food chain. In summary, human exposure to PFASs and their potential precursors can be divided into three main types: occupational exposure, general exposure, and maternal exposure of the fetus or infant.

Through *in vitro* and *in vivo* method assessments and epidemiological studies, PFAS concentrations have been associated with many types of cancer and also immune, reproductive, endocrine, and developmental disorders. For this reason, a

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

strict legislative framework has been established and restrictions are in place on a global scale.

Due to the above-mentioned elements, and the constantly advancing techniques of processing the samples, isolation-extraction of the substances and their instrumental analysis, the unveiling of numerous substances from the PFAS group has been achieved, even from complex substrates, as well as their detection and quantitation at continuously lower concentrations with high precision.

The purpose of this Thesis is the development, optimization and validation of an analytical method for the determination of 17 substances belonging to the PFAS family. More specifically, 11 perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCA) and 6 perfluoroalkyl sulfonic acids (PFSA). The assay was performed on a urine substrate.

The solid phase extraction technique was used for the extraction of PFAS from the biological substrate. The quantitative determination was carried out by a liquid chromatography tandem mass spectrometric method (LC-MS/MS). During the development and optimization of the analytical method, several pretreatment protocols of the samples were carried out, and the parameters that govern the instrumental chemical analysis were studied with the aim of finding the optimal conditions combined for all target analytes simultaneously. Finally, the method was validated according to the requirements of international guidelines.

The experimental part of this work took place at the Laboratory of Toxicological Control of Pesticides of the Benaki Phytopathological Institute in Athens.

Keywords: Biomonitoring, PFAS, Analytical Toxicology, LC-MS/MS, Biological Fluids

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντά μου, Ερευνητή Α' στο Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων (ΕΤΕΓΦ) του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου (ΜΦΙ), Δρ. Κωνσταντίνο Κασιώτη για την υπόδειξη του θέματος.

Η επιστημονική καθοδήγησή του, η παρότρυνση, η υποστήριξη και οι πολύτιμες συμβουλές που μου προσέφερε καθ' όλη την πορεία της μελέτης, υλοποίησης της πειραματικής διαδικασίας και συγγραφής της διπλωματικής εργασίας αποτέλεσαν καθοριστικούς παράγοντες για την επιτυχή ολοκλήρωση της. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Κυριακή Μαχαίρα, Γενική Διευθύντρια του ΜΦΙ, Προϊσταμένη του ΕΤΕΓΦ, Ερευνήτρια Α' για την δυνατότητα να πραγματοποιήσω την εν λόγω μελέτη.

Στην πορεία της μελέτης αυτής γεννήθηκαν απορίες και υπήρξαν εμπόδια τα οποία δεν θα μπορούσα να έχω ξεπεράσει χωρίς την πολύτιμη καθοδήγηση και τη συνεχή συνεργασία με τις Ερευνήτριες Ευφροσύνη Ζαφειράκη και. Ευαγγελία Τζανέτου και για αυτό τις ευχαριστώ θερμά.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω όλους τους εργαζομένους στο Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων για τη δημιουργία ενός αρμονικού περιβάλλοντος και κυρίως τις υποψήφιες διδάκτορες Ηλέκτρα Μανέα Κάργα και Θεοδώρα Μπαρμπούνη για την άψογη συνεργασία μας και την απλόχερη βοήθεια τους.

Τέλος, θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Διευθυντή και Καθηγητή του Προγράμματος Π.Μ.Σ. Τοξικολογίας, κ. Δημήτριο Κουρέτα για την ευκαιρία που μου έδωσε να φοιτήσω στο εν λόγω μεταπτυχιακό πρόγραμμα και για τις πολύτιμες γνώσεις που μου έδωσε για το πεδίο της Τοξικολογίας . Ευχαριστώ, επίσης και όλους τους υπόλοιπους διδάσκοντες του προγράμματος, που με τις γνώσεις τους και τη διδακτική τους εμπειρία μου έδωσαν την ευκαιρία να λάβω την απαραίτητη γνώση που αποτέλεσε θεμελιώδες εργαλείο για την εκπόνηση της παρούσας μελέτης.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Α. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΒΙΟΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ 14

1.1. Ευρωπαϊκά προγράμματα με στόχο την ανθρώπινη βιοπαρακολούθηση 15

1.2. Αξιολόγηση Κινδύνου (Risk Assesssment) 16

1.3. Βιολογικά Δείγματα 17

1.3.1. Αίμα 19

1.3.2. Ούρα 21

1.3.3. Εναλλακτικά υποστρώματα 23

1.4. Η σημασία της υγρής χρωματογραφίας - φασματομετρίας μάζας στη βιοανάλυση 24

2. ΥΠΕΡΦΘΟΡΙΩΜΕΝΕΣ ΚΑΙ ΠΟΛΥΦΘΟΡΙΩΜΕΝΕΣ ΑΛΚΥΛΙΩΜΕΝΕΣ ΟΥΣΙΕΣ (PFAS) 25

2.1. Ορισμός 26

2.2. Κατηγορίες PFAS 26

2.3. Φυσικοχημικές Ιδιότητες 30

2.3.1. Σταθέροτητα 30

2.3.2. Επιφανειοδραστικότητα 31

2.3.3. Τάση Ατμών 31

2.3.4. Σταθερά Διάστασης Οξέος (pKa) 31

2.3.5. Συντελεστής Κατανομής οκτανόλης – νερού 32

2.4. Προϊόντα & Εφαρμογές 32

2.5. Λόγοι εξέτασης των PFAS 37

2.5.1. Ανθεκτικότητα 37

2.5.2. Βιοσυσσώρευση 38

2.5.3. Ευκινησία 39

2.5.4. Τοξικότητα 39

2.6. Τοξικοκινητική 40

2.6.1. Εισαγωγή 41

2.6.2. Απορρόφηση 41

2.6.3. Διανομή 41

2.6.4. Βιομετατροπή 42

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

2.6.5. Απέκκριση 42
2.7. Οδοί έκθεσης 43
2.7.1. Δεδομένα έκθεσης – Βιβλιογραφική ανασκόπηση 44
2.8. Επιπτώσεις στην υγεία 46
2.9. Αξιολόγηση Κινδύνου (Risk Assesssment) 50
2.9.1. Νομοθετικά όρια 50
3. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ 54
3.1. Υγρή Χρωματογραφία (Liquid Chromatography, LC) 54
3.1.1. Βασικές Αρχές Λειτουργίας 55
3.1.2. Οργανολογία 56
3.1.3. Υγρή Χρωματογραφία Αντίστροφης φάσης 59
3.2. Φασματομετρία Μάζας (Mass Spectrometry, MS) 59
3.2.1. Βασικές Αρχές Λειτουργίας 59
3.2.2. Οργανολογία 61
3.2.3. Φασματομετρία μάζας σε σειρά 68
4. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ- ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΑΣ (LC-MS) 71
4.1. Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (Solid Phase Extraction - SPE) 71
4.2. Μέθοδος εσωτερικού και εξωτερικού προτύπου 74
5. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ / ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ 76
5.1. Ορισμός 76
5.2. Είδη Επικύρωσης 76
5.3. Βασικές Αρχές 76
5.4. Προσδιοριζόμενες παράμετροι 78
5.4.1. Εκλεκτικότητα (Selectivity) 78
5.4.2. Ειδικότητα (Specificity) 78
5.4.3. Επίδραση μητρικού υλικού (Matrix Effect) 79
5.4.4. Καμπύλη Βαθμονόμησης & Εύρος (Calibration Curve & Range) 79
5.4.5. Ακρίβεια (Accuracy) 80
5.4.6. Πιστότητα (Precision) 81
5.4.7. Μόλυνση εκ μεταφοράς (Carry – over) 81
5.4.8. Ακεραιότητα Αραίωσης (Dilution Integrity) 81
5.4.9. Σταθερότητα (Stability) 82
5.4.10. Αναπαραγωγιμότητα Επανέγχυσης (Reinjection Reproducibility) 82
5.4.11. Ευαισθησία (sensitivity, S) 82
5.4.12. Ανάκτηση από εκχύλιση (Extraction Recovery) 84

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

5.4.13. Σταθερότητα (Stability) 85
5.5. Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis M10, 2022 85
6. ΥΛΙΚΑ & ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ 92
6.1. Εργαστηριακά σκεύη & Αναλώσιμα 92
6.2. Όργανα & Διατάξεις 92
6.3. Αντιδραστήρια 93
6.3.1. Πρότυπες ουσίες 93
6.3.2. Διαλύτες 93
6.3.3. Διαλύματα 94
6.3.4. Ανθρώπινα δείγματα ούρων - Βιοηθική 96
7. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ 97
7.1.1. Εκχύλιση και καθαρισμός του δείγματος 97
7.1.2. Μέτρηση σε διάταξη LC-MS/MS 99
8. ΜΕΛΕΤΗ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ PFAS 105
8.1. Επιλογή στατικής φάσης 105
8.2. Επιλογή κινητής φάσης 106
8.3. Βελτιστοποίηση προγράμματος βαθμωτής έκλουσης 107
8.4. Βελτιστοποίηση παραμέτρων ανίχνευσης στη φασματομετρία μάζας 109
8.5. Βελτιστοποίηση συνθηκών εκχύλισης στερεάς φάσης 110
9. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗΣ 113
9.1.1. Αξιολόγηση Γραμμικότητας της καμπύλης βαθμονόμησης 113
9.1.2. Προσδιορισμός ορίων 114
9.1.3. Αξιολόγηση εκλεκτικότητας 115
9.1.4. Αξιολόγηση μόλυνσης εκ μεταφοράς 116
9.1.5. Αξιολόγηση ανάκτησης 117
10. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 118
11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 120
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 129

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 2-1: Κατηγορίες μη πολυμερών PFAS [20]. 28
Πίνακας 2-2: Κατηγορίες πολυμερών PFAS [20]. 29
Πίνακας 2-3: Χρόνο ημιζωής (ημέρες) του PFBA, PFBS, PFHxA, PFHxS, PFOA και PFOS σε αίμα αρουραίων, μαϊμούς και ανθρώπου [25]. 39
Πίνακας 3-1: Κύριες τεχνικές ιονισμού [1], [18], [67] 63
Πίνακας 5-1: Παράμετροι Επικύρωσης, οδηγίες και όρια [81] 90
Πίνακας 6-1: Συγεντρώσεις και ποσότητες των διαλυμάτων για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης. 94
Πίνακας 7-1: Συνθήκες έκλουσης Υγρής Χρωματογραφίας. 100
Πίνακας 7-2: Χαρακτηριστικά αναλυτικής στήλης. 101
Πίνακας 7-3: Παράμετροι Φασματογράφου Μάζας. 102
Πίνακας 8-1: Προγράμματα βαθμωτής έκλουσης που δοκιμάστηκαν κατά την ανάπτυξη της μεθόδου. 108
Πίνακας 9-1: Εξισώσεις παλινδρόμησης των αναλυτών. 114
Πίνακας 9-2: Υπολογισμός LOD και LLOQ 115
Πίνακας 9-3: Σταστικά δεδομένα εκλεκτικότητας για τους αναλύτες σε υπόσγτρωμα ούρων. 116
Πίνακας 9-4: Στατιστικά δεδομένα ανακτήσεων σε τρία (3) επίπεδα συγκεντρώσεων σε δείγματα ούρων. 117

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Α. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

1. ΒΙΟΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ

Ο κύριος λόγος ανησυχίας σχετικά με τις έμμονες και βιοσυσσωρευόμενες χημικές ουσίες στο περιβάλλον είναι η πιθανή επίδρασή τους στους ζωντανούς οργανισμούς. Συνεπώς, οι μελέτες εύρεσης συγκεντρώσεων ανθεκτικών χημικών ουσιών στρέφονται πρωτίστως στην ανάλυση των ζώντων οργανισμών έτσι ώστε τα βιοδιαθέσιμα κλάσματα της ρύπανσης να μπορούν να αξιολογηθούν.

Οι κυριότεροι λόγοι για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ενός ρύπου είναι:

1. Αποσαφήνιση εάν μια χημική ουσία αποτελεί πιθανή απειλή για τους ζώντες οργανισμούς.
2. Συσχέτιση με τις πιθανές επιπτώσεις τους στους οργανισμούς.
3. Αξιολόγηση εάν η απειλή από έναν ρύπο αυξάνεται, μειώνεται ή παραμένει σταθερή, ώστε να εξακριβωθεί εάν τα εκάστοτε μέτρα που λαμβάνονται κατά τις ρύπανσης είναι επαρκή [1].

Για αυτόν τον λόγο δημιουργήθηκε ο όρος βιοπαρακολούθηση (biomonitoring) με στόχο την παρακολούθηση της ανθρώπινης έκθεσης σε δυνητικά επικίνδυνες ουσίες, τις επιπτώσεις τους και τη μέτρηση των αυτών ουσιών, των μεταβολιτών τους ή των προϊόντων αντίδρασης σε βιολογικά δείγματα. Τα δεδομένα βιοπαρακολούθησης αντικατοπτρίζουν άμεσα τη συνολική επιβάρυνση του σώματος και τη βιολογική επίδραση που προκύπτει από όλες τις οδούς έκθεσης, τη μεταβλητότητα στα επίπεδα έκθεσης, τον μεταβολισμό και τον ρυθμό απέκκρισης. Τέτοιου είδους δεδομένα είναι συχνά τα πιο σχετικά για την εκτίμηση επιπτώσεων στην υγεία, ειδικά για βιοσυσσωρεύσιμες ή έμμονες χημικές ουσίες που αποθηκεύονται στο σώμα για μεγάλο χρονικό διάστημα, όπως οι υπερφθοριωμένες και πολυφθοριωμένες αλκυλιωμένες ουσίες (PFAS) που θα αναλυθούν στη συνέχεια.

Τα δεδομένα που αντλούνται μέσω της βιοπαρακολούθησης συνδυάζονται με δεδομένα από πηγές έκθεσης και επιδημιολογικές μελέτες και χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση κινδύνου (Risk Assessment) της επικινδυνότητας μίας χημικής ουσίας, αποσαφηνίζοντας τη σχέση έκθεσης και απόκρισης. Ένας από τους πιο κατάλληλους τρόπους για να επιτευχθεί η αξιολόγηση αυτή είναι η ανάλυση αντιπροσωπευτικών βιολογικών δειγμάτων των οργανισμών [2].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Για να επιτευχθεί η βιοπαρακολούθηση απαιτείται να πληρούνται τα ακόλουθα:

- Κατάλληλα βιολογικά υποστρώματα.
- Κατάλληλες παράμετροι, ικανές να προσδιορίζουν την εσωτερική έκθεση, βιοχημικές ή βιολογικές επιδράσεις.
- Κατάλληλες και αξιόπιστες αναλυτικές μέθοδοι.
- Τιμές αναφοράς και οριακές τιμές που επιτρέπουν την ερμηνεία των αποτελεσμάτων [3].

Όταν έχουν προσδιοριστεί οι συγκεντρώσεις ρύπων, αξιολογούνται οι κίνδυνοι που είναι πιθανό να προκληθούν, συντάσσονται συμπεράσματα και λαμβάνονται νομοθετικά μέτρα [4], [5].

1.1. Ευρωπαϊκά προγράμματα με στόχο την ανθρώπινη βιοπαρακολούθηση

Η βιοπαρακολούθηση δημιούργησε την ανάγκη δημιουργίας εθνικών και διεθνών προγραμμάτων επιτήρησης για τη συλλογή πληροφοριών σχετικά με την έκθεση του πληθυσμού σε περιβαλλοντικούς κινδύνους που είναι γνωστό ότι είναι σημαντικοί για τη δημόσια υγεία [6].

Στο πλαίσιο αυτό, υλοποιήθηκε η πρωτοβουλία υλοποίησης του προγράμματος HBM4EU (Human Biomonitoring for Europe). Το HBM4EU ξεκίνησε ως Ευρωπαϊκό Κοινό Έργο (EJP) 28 συμμετεχουσών χωρών και του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Περιβάλλοντος (European Environment Agency) για την ανάπτυξη ενός βιώσιμου ευρωπαϊκού δικτύου βιοπαρακολούθησης (2017–2021). Θεμελιώδης σκοπός του είναι η παροχή στοιχείων για την πραγματική έκθεση των πολιτών σε χημικές ουσίες μέσω του περιβάλλοντος, των τροφίμων, των καταναλωτικών προϊόντων και της επαγγελματικής δραστηριότητας αλλά και η συσχέτιση της δράσης των βιοδεικτών με τις επιπτώσεις στην υγεία [7].

Αντίστοιχα, το επακόλουθο πρόγραμμα PARC (Partnership for the Assessment of Risks in Chemicals), στηρίζει το έργο του HBM4EU ενισχύοντας την επιστημονική βάση για την αξιολόγηση κινδύνου των χημικών ουσιών και διευκολύνοντας τη

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

μετάβαση της ευρωπαϊκής ένωσης στην αξιολόγηση κινδύνου επόμενης γενιάς μέσω των βάσεων δεδομένων [6], [8].

1.2. Αξιολόγηση Κινδύνου (Risk Assesssment)

Στη διαδικασία αξιολόγησης των κινδύνων μία κοινή πρακτική είναι η επιλογή του πιο ευαίσθητου αποτελέσματος μίας δόση-απόκριση μελέτης βασισμένη στη χαμηλότερη δόση αναφοράς BMD (benchmark dose). Μία δόση αναφοράς BMD είναι μια δόση που παράγει μια προκαθορισμένη μεταβολή στον ρυθμό εμφάνισης μιας δυσμενούς αλλοίωσης. Αυτή η προκαθορισμένη μεταβολή στην εμφάνιση ονομάζεται απόκριση αναφοράς BMR (benchmark response). Σε φυσιολογικές συνθήκες, η προκαθορισμένη απόκριση αναφοράς (BMR) είναι 5% ή 10% διαφορά στο δυσμενές αποτέλεσμα απόκρισης σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (control).

Το κατώτατο επίπεδο στο οποίο παρατηρούνται αυτές οι δυσμενείς επιπτώσεις ονομάζεται LOAEL (Lowest observed adverse effect level) και το επίπεδο μη παρατηρούμενου ανεπιθύμητου αποτελέσματος ονομάζεται NOAEL (No observed adverse effect level). Αντίστοιχα, το «επίπεδο μη παρατηρούμενης βλάβης», είναι η υψηλότερη δόση που δεν προκαλεί τοξικές αλλοιώσεις και ονομάζεται NOEL (No observed effect level) [9], [10].

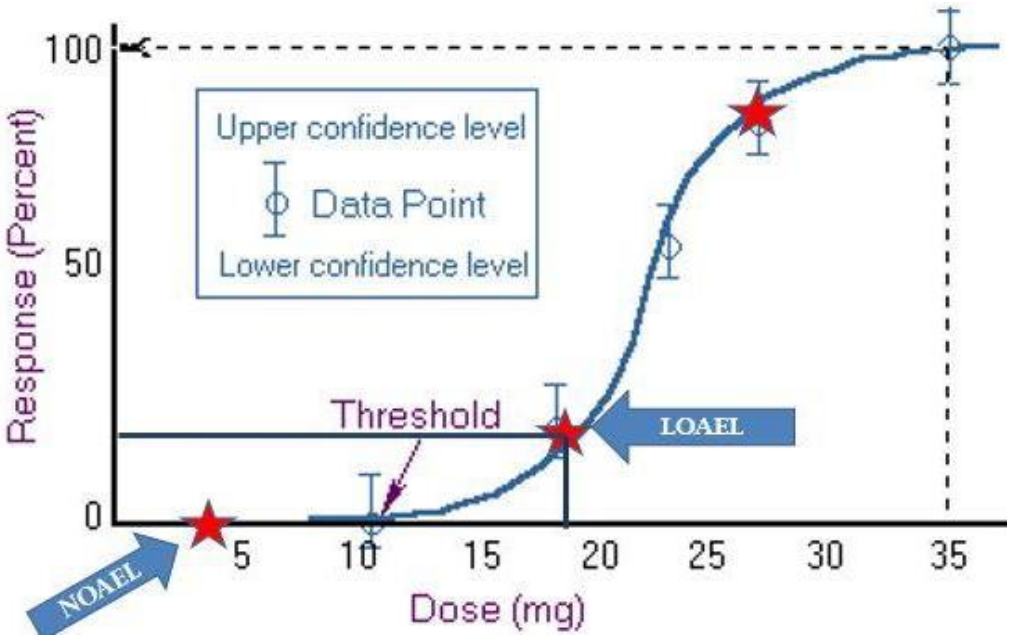
Η προσέγγιση του BMD έχει διακριτά πλεονεκτήματα και εφαρμόζεται στον EPA, επειδή τα αποτελέσματα αντικατοπτρίζουν την καμπύλη δόσης-απόκρισης και επηρεάζονται λιγότερο από την επιλογή των πειραματικών συγκεντρώσεων. Ωστόσο, η προσέγγιση BMD απαιτεί ένα μεγάλο σύνολο δεδομένων που δεν είναι πάντα διαθέσιμο.

Οι ανθρώπινες επιδημιολογικές μελέτες προτιμώνται ως πιο ασφαλή δεδομένα για τη δημιουργία τοξικολογικών οδηγιών όταν υπάρχουν τέτοιου είδους διαθέσιμα δεδομένα. Ωστόσο, όταν τα δεδομένα από επιδημιολογικές μελέτες για τις επιπτώσεις των εκάστοτε ουσιών είναι περιορισμένα, χρησιμοποιούνται μελέτες σε ζώα ως η βάση για την προκύπτουσα δόση αναφοράς (RfD).

Το RfD είναι η εκτίμηση της ποσότητας μίας χημικής ουσίας που ένα άτομο μπορεί να καταναλώνει καθημερινά, χωρίς να οδηγήσει σε δυσμενείς επιπτώσεις στην

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

υγεία του. Πολλές μελέτες σε ζώα για τις δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία επικεντρώνονται σε υποκλινικούς δείκτες πιθανών δυσμενών επιπτώσεων στην υγεία (π.χ. ηπατικά ένζυμα, ανοσολογικούς δείκτες) και σπανιότερα σε κλινικά σημαντική νόσο (π.χ. χρόνια ηπατική νόσο, λοίμωξη) [11].



Σχήμα 1: Καμπύλη Δόσης - Απόκρισης με επισήμανση των σημείων NOAEL, LOAEL [10]

Τοξικότητα

Ως τοξικότητα ορίζεται η πιθανή βλάβη σε ζώντες οργανισμούς από την έκθεση τους για μικρό ή μεγάλο χρονικό διάστημα σε κάποια ουσία ή σε μίγματα ουσιών. Η τοξικότητα μιας ουσίας εξαρτάται από την δόση εφαρμογής αλλά και τον χρόνο έκθεσης στην δόση. Διακρίνεται σε οξεία τοξικότητα και χρόνια τοξικότητα ανάλογα με τον χρόνο έκθεσης ενός οργανισμού σε μια ουσία [12].

1.3. Βιολογικά Δείγματα

Στις αρχές του 1930 χρησιμοποιήθηκαν βιολογικά δείγματα στο πλαίσιο της διερεύνησης της προστασίας της υγείας εργαζομένων εκτεθειμένων σε μόλυβδο. Ο τότε προσδιορισμός του στο αίμα και στα ούρα είναι ένα πρώιμο παραδείγματα βιοπαρακολούθησης της έκθεσης στο χώρο εργασίας. Σε συνδυασμό με την εξέλιξη

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

των αναλυτικών τεχνικών (1960) και με τη δυνατότητα μέτρησης χαμηλών συγκεντρώσεων χημικών ουσιών στο αίμα και στα ούρα υπήρξε για πρώτη φορά η δυνατότητα προσδιορισμού πολύ χαμηλότερων συγκεντρώσεων χημικών ουσιών σε βιολογικά υγρά που προέρχονταν από την περιβαλλοντική έκθεση [3].

Βιολογικό υγρό είναι εν δυνάμει κάθε σωματικό υγρό (αίμα, ούρα, γαστρικό περιεχόμενο, σίελος, μητρικό γάλα κ.α.). Τα βιολογικά υγρά μπορεί να είναι είτε δείγματα ζώντων είτε μεταθανάτια.

Έχουν μεγάλο ενδιαφέρον σε επιστήμες όπως:

• **Τοξικολογία:** σε τοξικολογικές μελέτες, όπως γενοτοξικότητα, οξεία τοξικότητα, χρόνια τοξικότητα, τοξικότητα αναπαραγωγής, ανάπτυξης, καρκινογένεσης.

• **Φαρμακευτική**: σε φαρμακοκινητικές μελέτες, σε κλινικές δοκιμές, μελέτες βιοδιαθεσιμότητας και βιοϊσοδυναμίας.

• **Βιοϊατρική:** σε μελέτες μεταβολισμού, κλινικές αναλύσεις, μελέτες θεραπευτικού αποτελέσματος με παρακολούθηση συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα, ώστε να βρεθεί η θεραπευτική δόση, στη διαγνωστική.

Το εκάστοτε βιολογικό υγρό επιλέγεται με βάση τη διαθεσιμότητα του και το σκοπό της τοξικολογικής ανάλυσης, καθώς είναι απαραίτητο να υφίσταται σε επαρκείς ποσότητες και να λαμβάνεται με όσο το δυνατό μη επεμβατικό τρόπο χωρίς να υπάρχει κίνδυνος για την υγεία του δότη. Παράλληλα καταλυτικό ρόλο στην επιλογή βιολογικού υποστρώματος έχουν οι χημικές ιδιότητες των προς ανάλυση ουσιών και κατ’επέκταση ο μεταβολισμός και η οδός απέκκρισής τους. Τα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα είναι το αίμα-πλάσμα και τα ούρα. Προτιμώνται ως δείγματα, λόγω της υψηλότερης συγκέντρωσης των ενώσεων και των μεταβολιτών τους αλλά και της εύκολης λήψης τους. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις χρησιμοποιούνται και άλλα βιολογικά υγρά, όπως η σίελος και το γαστρικό υγρό. Κατά συνέπεια τα βιολογικά δείγματα ταξινομούνται σε συμβατικά και μη συμβατικά-εναλλακτικά.

Η ιδιαιτερότητα των βιολογικών δειγμάτων οφείλεται κυρίως:

- στην πολυπλοκότητα της φύσης των δειγμάτων, λόγω της παρουσίας σε αυτά πληθώρας χημικών ουσιών καθώς και κυτταρικών μορφών,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

- στις ειδικές συνθήκες δειγματοληψίας,
- στις ιδιαίτερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης,
- στις ιδιαίτερες συνθήκες κατεργασίας,
- στην απαραίτητη λήψη ειδικών μέτρων προφύλαξης κατά το χειρισμό τους [1], [13].

1.3.1. Αίμα

Ο όρος «ολικό αίμα» αναφέρεται στο αίμα εκείνο, το οποίο συνδυάζεται με έναν αντιπηκτικό παράγοντα κατά τη διαδικασία συλλογής και θεωρείται ένα ειδικά τυποποιημένο προϊόν για μετάγγιση ή για περαιτέρω επεξεργασία για αναλυτικούς σκοπούς.

Το ανθρώπινο σώμα περιέχει περίπου 6 L αίμα. Κυρίως, λαμβάνεται φλεβικό αίμα και οι περισσότεροι προσδιορισμοί γίνονται σε ορό ή πλάσμα, που λαμβάνεται σε όγκο περίπου 25% μετά τη φυγοκέντρηση του αίματος. Το ανθρώπινο αίμα αποτελείται από το πλάσμα, μέσα στο οποίο περιέχονται τρεις τύποι κυττάρων: τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα λευκά αιμοσφαίρια και τα θραύσματα κυττάρων ή αιμοπετάλια. Περιέχει, επίσης, αέρια, όπως το οξυγόνο, το διοξείδιο του άνθρακα και το άζωτο και μεταφέρει σε μικρές ποσότητες μια μεγάλη ποικιλία διαλυμένων χημικών ουσιών, στις οποίες περιλαμβάνονται υδατάνθρακες (γλυκόζη), πρωτεΐνες (λευκώματα), ορμόνες, λίπη, ανόργανοι ηλεκτρολύτες και αζωτούχες ενώσεις.

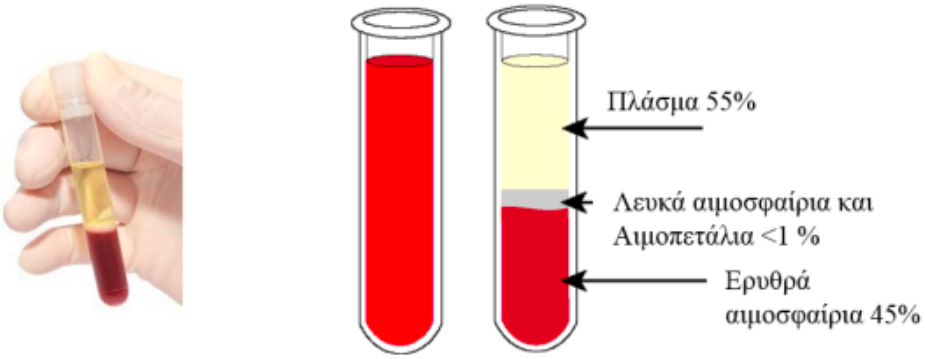
Η σύστασή του αποτελείται κατά 22% από στερεά και κατά 78% από νερό. Το πλάσμα αίματος είναι υποκίτρινο υγρό το οποίο αποτελεί τη βάση του συνδετικού ιστού του κυκλοφορικού συστήματος, ως άμορφο συστατικό του αίματος. Το πλάσμα αποτελεί κύριο συστατικό του αίματος και το 55% του όγκου του, περιλαμβάνει τις πρωτεΐνες πλάσματος, περίπου 90% νερό και διάφορους διαλύτες, δηλαδή αιμοσφαίρια (45% του συνολικού όγκου του αίματος). Ο ορός ως προς τη σύνθεση προσομοιάζει το πλάσμα αλλά στερείται τους θρομβωτικούς παράγοντες πήξης. Προτιμάται σε πολλές δοκιμές, δεδομένου ότι τα αντιπηκτικά στο πλάσμα, ενδεχομένως, παρεμποδίζουν τα αποτελέσματα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Η σωστή δειγματοληψία του αίματος αποτελεί θεμελιώδη παράγοντα για την αξιοπιστία ενός προσδιορισμού, ενώ παράγοντες όπως το φύλο, η ηλικία, η δίαιτα, η λήψη φαρμάκων, η μυϊκή άσκηση, η ώρα της δειγματοληψίας κ.ά., πρέπει να λαμβάνονται υπόψη διότι μπορεί να επηρεάσουν τη χημική σύσταση του λαμβανόμενου δείγματος.

Επίσης, απαιτείται συντήρηση και φύλαξη των δειγμάτων του ορού/πλάσματος στους -10°C ή στους -25°C, αν πρόκειται για μεγάλα χρονικά διαστήματα παραμονής. Το πλήρες αίμα δεν καταψύχεται ώστε να αποφευχθεί αιμόλυση ή ανώμαλη κατανομή ορισμένων ιόντων και ενζύμων μεταξύ κυττάρων και ορού.

Τέλος, κατά το χειρισμό δειγμάτων αίματος ή ορού απαιτείται η λήψη μέτρων προφύλαξης του χειριστή, διότι κάθε δείγμα θεωρείται ως πιθανή πηγή μολύνσεως και επικίνδυνο για την υγεία του [1].



Σχήμα 2: Σύσταση αίματος [1].

Ως προς τη βιοπαρακολούθηση το αίμα είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο υπόστρωμα για πλήθος χημικών ουσιών διότι βρίσκεται σε συνεχή επαφή με τα όργανα και τους ιστούς όπου οι ουσίες αποθηκεύονται καθώς και με το σύνολο του οργανισμού. Επιπλέον η διαδικασία της αιμοληψίας αποτελεί μία τυποποιημένη διαδικασία για το μεγαλύτερο εύρος των ανθρώπων.

Αντίθετα, κάποια μειονεκτήματα του αίματος ως δείγμα στη βιοπαρακολούθηση είναι:

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

- Οι συγκεντρώσεις των ουσιών που αναζητούνται είναι σε μερικές περιπτώσεις χαμηλές και ανιχνεύσιμες για σύντομο χρονικό διάστημα.
- Δεν υπάρχει πάντα συσχέτιση των κλινικών αποτελεσμάτων με τη συγκέντρωση στο αίμα.
- Σε περιπτώσεις ουσιών με μεγάλο ποσοστό κατανομής είναι προτιμότερη η ανάλυση άλλων βιολογικών δειγμάτων, όπως τα ούρα
- Αποτελεί μία επεμβατική μέθοδο λήψης δείγματος [1], [13], [14].

1.3.2. Ούρα

Ως «ούρα» ορίζεται το σύνολο των υδατοδιαλυτών ουσιών, προϊόν απέκκρισης των νεφρών, το οποίο διαμέσου των υπόλοιπων οργάνων του ουροποιητικού συστήματος αποβάλλεται από το σώμα. Ο μεταβολισμός των ενώσεων δημιουργεί πολλά υποπροϊόντα τα οποία απομακρύνονται από την κυκλοφορία του αίματος και αποβάλλονται με τα ούρα.

Τα ούρα δεν έχουν σταθερή σύσταση αλλά είναι ένα υδατικό διάλυμα που αποτελείται κατά 95 % περίπου από νερό. Ενδεικτικά, η χημική σύσταση των ούρων ενός υγειούς ενήλικα είναι ουρία σε συγκέντρωση 9,3 g/L, χλώριο σε συγκέντρωση 1,87 g/L, νάτριο σε συγκέντρωση 1,17 g/L, κάλιο σε συγκέντρωση 0,750 g/L. Το υπόλοιπο ποσοστό είναι διαλυμένα ανόργανα ιόντα και οργανικές ενώσεις, όπως πρωτεΐνες ή ορμόνες, καθώς επίσης και παραπροϊόντα του μεταβολισμού. Αναλυτικότερα, περιέχονται: ουρία, ουρικό οξύ, κρεατινίνη, αμμωνία, οξαλικό οξύ, διάφορα άλατα, καθώς και άλλες οργανικές ή ανόργανες ουσίες.

Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τη σύσταση τους είναι η πρόσληψη νερού και το είδος της τροφής που καταναλώνεται. Σε έναν υγιή οργανισμό απομακρύνονται από τους νεφρούς «στείρα» ούρα, και χωρίς πρωτεΐνες, και έπειτα είναι πιθανό να αναμειχθούν με προσμίξεις βλέννας ή βακτηρίων μέχρι την έξοδό τους από τον οργανισμό. Το φυσιολογικό pH των ούρων στον άνθρωπο κυμαίνεται από 4.7 έως 8. Το χρώμα και ο όγκος τους αποτελούν αξιόπιστους δείκτες ενυδάτωσης του οργανισμού, με αποτέλεσμα το σκούρο χρώμα τους να είναι ενδεικτικό αφυδάτωσης. Ωστόσο, η χρήση αλκοόλ, καφεΐνης ή άλλων διουρητικών μπορεί να μεταβάλουν το χρώμα, τη σύσταση και τον όγκο των ούρων. Η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

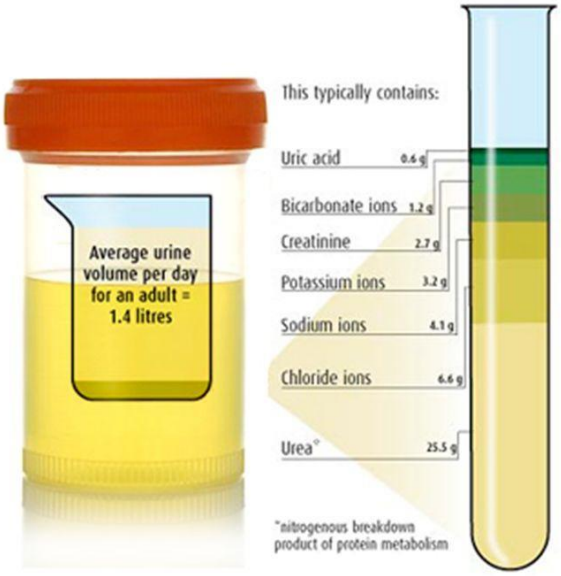
δειγματοληψία είναι άμεση, εύκολη, μη παρεμβατική και είναι εφικτό να γίνει σε μεγάλους όγκους. Σε πολλές περιπτώσεις, οι συγκεντρώσεις των ουσιών στα ούρα είναι υψηλότερες απ' ό,τι στο αίμα. Τέλος, κατά την ανάλυσή τους ανιχνεύονται τόσο οι μητρικές ουσίες, όσο και οι μεταβολίτες τους.

Τα μειονεκτήματα του συγκεκριμένου βιολογικού υγρού σχετίζονται κυρίως με τις βακτηριακές μόλυνσεις που είναι πιθανό να προκληθούν σε ένα δείγμα κατά τη χρήση ή την αποθήκευση και συντήρηση του. Επίσης, σε περίπτωση πρόσφατης έκθεσης του δότη στην προς ανάλυση ουσία, υπάρχει ο κίνδυνος να μην έχει προλάβει να απεκκριθεί με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατή η ανίχνευσή της στα ούρα.

Στις περισσότερες περιπτώσεις δειγματοληψίας ούρων προτιμώνται τα πρωινά ούρα καθώς είναι πυκνότερα, διότι οι νεφροί έχουν μεγαλύτερη συμπυκνωτική ικανότητα κατά τη διάρκεια της νύχτας, είναι πιο όξινα και με αυτόν τον τρόπο τα έμμορφα στοιχεία διατηρούνται περισσότερο από ό,τι σε αλκαλικά ή λιγότερο όξινα ούρα, έχουν πιο σταθερή σύσταση με αποτέλεσμα να είναι πιο συγκρίσιμα, έχουν σταθερότερο ειδικό βάρος και δίνουν μια εικόνα της συμπυκνωτικής ικανότητας του νεφρού.

Οι μέθοδοι για το χειρισμό, την αποθήκευση και τη συντήρηση των δειγμάτων ούρων εξαρτώνται από το σκοπό, τη φύση της ανάλυσης και από τα προσδιοριζόμενα συστατικά. Διάφορες μέθοδοι προκατεργασίας δειγμάτων, όπως είναι η φυγοκέντρηση, η εκχύλιση, η καταβύθιση πρωτεϊνών και ο καθαρισμός νουκλεϊκού οξέος, χρησιμοποιούνται για διαφορετικούς αναλυτικούς σκοπούς [1], [2], [5], [13], [14].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250



Σχήμα 3: Τυπική σύσταση ούρων ενός υγιούς ενήλικα [15].

1.3.3. Εναλλακτικά υποστρώματα

Όταν το αίμα και τα ούρα δεν αναμένεται να περιέχουν την ένωση που αναζητείται ή όταν απαιτείται η τεκμηρίωση της χρόνιας λήψης μίας ουσίας, αναζητούνται νέα υποστρώματα, τα οποία έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην τοξικολογία και γενικότερα στη βιοανάλυση και ονομάζονται «εναλλακτικά». Ως εναλλακτικά θεωρούνται οι τρίχες, οι όνυχες, το εγκεφαλονωτιαίο υγρό, του οποίου η ανάλυση δίνει πληροφορίες για την ποσότητα μίας ουσίας στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) κατά τη στιγμή του θανάτου, τα στοματικά υγρά, ο ιδρώτας, το μηκώνιο, το περικαρδικό υγρό, το οφθαλμικό υγρό, οι ιστοί από όργανα, αδένες, οστά, γαστρικό περιεχόμενο κ.α.

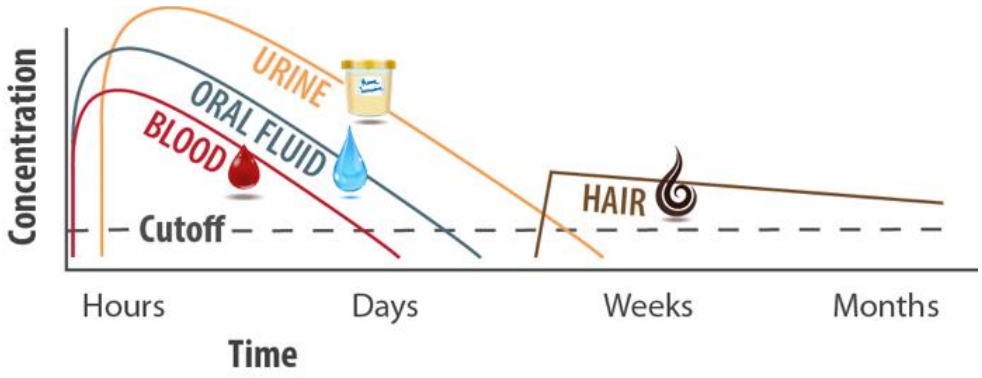
Τρίχα: δίνει τη δυνατότητα για πληροφορίες που αφορούν σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα, π.χ. εβδομάδες ή μήνες. Οι ουσίες είναι εγκλωβισμένες στο εσωτερικό της τρίχας, δεν απομακρύνονται με τις συνήθεις διαδικασίες υγιεινής και γι’ αυτόν το λόγο θεωρούνται και ως ημερολόγια της έκθεσης σε συγκεκριμένες ουσίες.

Στοματικό υγρό: πλεονεκτεί ως προς την εύκολη λήψη και τη δύσκολη αντικατάσταση. Προσδιορίζονται ενώσεις που δεν είναι δεσμευμένες σε πρωτεΐνες,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

οι οποίες και είναι οι φαρμακολογικά ενεργές. Οι φαρμακοκινητικές μελέτες σε στοματικά υγρά είναι παρόμοιες με αυτές στο πλάσμα [1].

Μητρικό γάλα: Το ανθρώπινο μητρικό γάλα είναι ένα σύνθετο, ειδικό υγρό και αποτελείται όχι μόνο από βασικά θρεπτικά συστατικά (βιταμίνες, μέταλλα, πρωτεΐνες), κύτταρα, ορμόνες, ανοσολογικούς και ανοσοτροποποιητικούς παράγοντες (κυτοκίνες, ανοσοσφαιρίνη A, microRNAs), αλλά και από μη θρεπτικά βιομόρια (γλυκο-συζυγή, ολιγοσακχαρίτες) και μια τεράστια ποικιλία μικροβίων (βακτήρια, ιοί, πρωτόζωα, αναερόβιοι μύκητες) γνωστά ως μικροβίωμα του ανθρώπινου γάλατος [16].



Σχήμα 4: Διάγραμμα συσχέτισης συγκέντρωσης και χρόνου για τα βιολογικά δείγματα [17].

1.4. Η σημασία της υγρής χρωματογραφίας - φασματομετρίας μάζας στη βιοανάλυση

Η χρήση των συνδυασμένων τεχνικών στην βιοανάλυση αποτελεί ένα καινούργιο και πολύ χρήσιμο εργαλείο, καθώς δίνουν αξιόπιστα αποτελέσματα, ενώ οι μέθοδοι που αναπτύσσονται είναι γρήγορες, αποδοτικές και οικονομικές. Μία από τις πιο διαδεδομένες συνδυασμένες τεχνικές που χρησιμοποιείται είναι η υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (LC-MS) και έχει οδηγήσει σε σημαντικές ανακαλύψεις στον τομέα της βιοανάλυσης από τα μέσα του 20ου αιώνα λόγω της εξειδίκευσης, της μεγάλης ευαισθησίας και των ταχυτήτων της [88].

Θεωρείται πλέον ως την προτιμώμενη τεχνική για την ποσοτικοποίηση χημικών ουσιών σε διάφορα βιολογικά υποστρώματα (πλάσμα, ούρα, ιστοί). Τα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

πλεονεκτήματα της τεχνικής αυτής είναι το μικρό κόστος αναλύσεων, η απλή και γρήγορη προκατεργασία των δειγμάτων ακόμα και σε σύνθετα υποστρώματα, η γρήγορη ανάλυση πολλών δειγμάτων καθώς και ο προσδιορισμός χαμηλών συγκεντρώσεων λόγω υψηλής ευαισθησίας. Επιπρόσθετα, επιτυγχάνει ικανοποιητικό χρωματογραφικό διαχωρισμό στα δύσκολα αυτά υποστρώματα, όπως είναι τα βιολογικά υγρά, μειώνοντας τις επιδράσεις του υποστρώματος [1], [18].

2. ΥΠΕΡΦΘΟΡΙΩΜΕΝΕΣ ΚΑΙ ΠΟΛΥΦΘΟΡΙΩΜΕΝΕΣ ΑΛΚΥΛΙΩΜΕΝΕΣ ΟΥΣΙΕΣ (PFAS)

Όλοι οι άνθρωποι περιτριγυρίζονται από χιλιάδες τεχνητές και μη χημικές ουσίες, οι οποίες βρίσκονται στα προϊόντα που χρησιμοποιούν καθημερινά. Από αυτές τις χημικές ουσίες κάποιες είναι βλαβερές τόσο για το περιβάλλον όσο και για τον ανθρώπινο οργανισμό, τον οποίο προσβάλλουν μέσω πολλαπλών οδών. Οι επικίνδυνες αυτές χημικές ουσίες και η απειλή που αποτελούν για τον άνθρωπο πολλές φορές αγνοείται και δε γίνεται εύκολα αντιληπτή. Κατηγορία αυτών των ουσιών αποτελούν οι παραμένοντες «έμμονοι» οργανικοί ρύποι (EOP, POPs).

Οι EOP είναι χημικές ενώσεις που χαρακτηρίζονται από ανθεκτικότητα ως προς τη χημική και τη βιολογική τους διάσπαση. Έχουν τη δυνατότητα να μεταφέρονται σε μεγάλη απόσταση, με αποτέλεσμα να παραμένουν στο περιβάλλον για μεγάλα χρονικά διαστήματα και να βιοσυσσωρεύονται μέσω της τροφικής αλυσίδας και τους ζωντανούς οργανισμούς.

Οι EOP έχει αποδειχθεί ότι έχουν επιβλαβείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον. Για αυτόν τον λόγο η διαχείρισή τους απαιτεί συνεργασία σε διεθνές επίπεδο με σκοπό τη λήψη δραστικών μέτρων για την μείωση παραγωγής και διάθεσης των ρυπογόνων αυτών ουσιών.

Στην κατηγορία των ενώσεων αυτών περιλαμβάνονται και οι υπερφθοριωμένες και πολυφθοριωμένες αλκυλιωμένες ουσίες (Per- and Polyfluoroalkyl substances, PFAS) [19].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

2.1. Ορισμός

Οι υπερφθοριωμένες και πολυφθοριωμένες αλκυλιωμένες ενώσεις (PFAS) ορίζονται ως αλειφατικές ενώσεις με μια πλήρως ή μερικώς φθοριωμένη αλυσίδα άνθρακα συνδεδεμένη με διαφορετικές λειτουργικές ομάδες που χαρακτηρίζονται από τον τύπο, $C_n F_{2n+1}$ [20].

Ένας πιο διευρυμένος ορισμός από τον Οργανισμό Οικονομικής Συνεργασίας & Ανάπτυξης (ΟΟΣΑ, OECD) το 2021 ορίζει τα PFAS ως φθοριούχες ουσίες που περιέχουν τουλάχιστον ένα πλήρως φθοριωμένο μεθύλιο ή μεθυλένιο (χωρίς κανένα άτομο H/Cl/Br/I συνδεδεμένο σε αυτό), δηλαδή με μερικές εξαιρέσεις, οποιαδήποτε χημική ουσία με τουλάχιστον μια υπερφθοριωμένη μεθυλομάδα ($–CF_3$) ή μια υπερφθοριωμένη ομάδα μεθυλενίου ($–CF_2–$).

Ο νέος ορισμός δημιουργήθηκε για να εντάξει μέσα στην οικογένεια των PFAS εκείνες τις ενώσεις που έχουν λειτουργικές ομάδες και στα δύο άκρα των πλήρως φθοριωμένων τμημάτων κορεσμένου άνθρακα και εκείνες που έχουν κυκλική δομή στο τέλος των πλήρως φθοριωμένων τμημάτων κορεσμένου άνθρακα [21].

Αποτελούν συνθετικές ουσίες, αριθμούν περισσότερες από 12,000 [11] χρησιμοποιούνται δε ευρέως στην καθημερινότητα, σε βιομηχανικά και καταναλωτικά προϊόντα, εδώ και 70 περίπου χρόνια. Λόγω του δεσμού άνθρακα-φθορίου διασπώνται δύσκολα τόσο κατά τη διάρκεια της χρήσης τους όσο και όταν καταλήξουν εν τέλει στο περιβάλλον ενώ η έκθεση σε αυτές θεωρείται επιβλαβής για την υγεία του ανθρώπου [22], [23].

2.2. Κατηγορίες PFAS

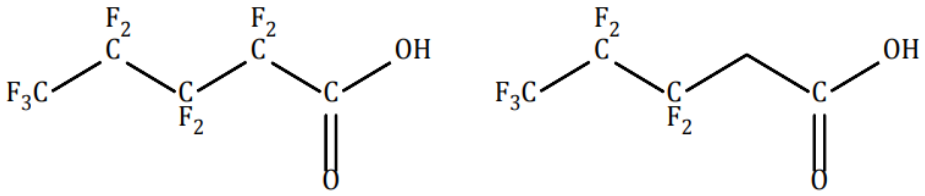
Τα PFAS μπορούν να ταξινομηθούν σε επιμέρους κατηγορίες ανάλογα με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά τους για τη βέλτιστη κατανόηση τους και την αποδοτικότερη αντιμετώπιση τους. Πιο συγκεκριμένα, διακρίνονται σε πολυμερή και μη πολυμερή.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Τα πολυμερή περιλαμβάνουν ένα ή περισσότερα μονομερή PFAS και υπάρχει η δυνατότητα αποικοδόμησης τους σε μονομερή PFAS και την απελευθέρωση τους στο περιβάλλον κατά τη διάρκεια χρήσης τους ή μετά την απόρριψη τους.

Τα μη πολυμερή διακρίνονται εκ νέου σε υπερφθοροαλκυλικές ουσίες και σε πολυφθοροαλκυλικές ουσίες.

Η διαφορά μεταξύ αυτών των ουσιών είναι ότι στην πρώτη περίπτωση οι ουσίες έχουν μία λειτουργική ομάδα και μια αλυσίδα ανθράκων, στην οποία όλα τα άτομα υδρογόνου έχουν αντικατασταθεί από άτομα φθορίου. Αντίθετα, οι πολυφθοροαλκυλικές ουσίες περιέχουν τουλάχιστον ένα πλήρως φθοριωμένο άτομο άνθρακα εντός της ανθρακικής αλυσίδα όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα [24].



Σχήμα 5: Χημική δομή από υπερφθοροαλκυλική ουσία (αριστερά).
Χημική δομή από πολυφθοροαλκυλική ουσία (δεξιά) [25].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 2-1: Κατηγορίες μη πολυμερών PFAS [20].

ΥΠΕΡΦΘΟΡΟΑΛΚΥΛΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ		
ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	**ΥΠΟΚΑΤΗΓΟΡΙΑ (ΟΝΟΜΑΣΙΑ)**	**C_nF2_{n+1R}, όπου R=**
Υπερφθοροαλκυλικά οξέα (PFAA)	Υπερφθοροαλκυλικά καρβοξυλικά οξέα (PFCA)	-COOH
	Υπερφθοροαλκυλικά καρβοξυλικά (PFCA)	$-COO^-$
	Υπερφθοροαλκυλικά θειώδη οξέα (PFSA)	$-SO_3H$
	Υπερφθοροαλκυλικά θειώδη (PFSA)	$-SO_3^-$
	Υπερφθοροαλκυλικά υποθειώδη οξέα (PFSIA)	$-SO_2H$
	Υπερφθοροαλκυλικά φωσφονικά οξέα (PFPA)	$-P(=O)(OH)_2$
	Υπερφθοροαλκυλικά φωσφινικά οξέα (PFPIA)	$-P(=O)(OH)(C_mF_{2m+1})$
Υπερφθοροαλκυλικά σουλφονικά φθορίδια (PASF)		$-SO_2F$
Υπερφθοροαλκυλικές σουλφοναμίνες (PASA)		$-SO_2NH_2$
Υπερφθοροαλκυλικά φθορίδια (PAF)		-COF
Υπερφθοροαλκυλικά ιωδίδια (PFAI)		-I
Υπερφθοροαλκυλικές αλδεΰδες (PFAL) και ένυδρες (PFAL·H_2Os)		-CHO and $-CH(OH)_2$
ΠΟΛΥΦΘΟΡΟΑΛΚΥΛΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ		
Υπερφθοροαλκυλικές σουλφοναμιδικές ουσίες	N-αλκυλουπερφθοροαλκυλικές σουλφοναμίδες (MeFASA, EtFASA, BuFASA)	$-SO_2NH(R')$ όπου R´= C_mH2_{m+1} (m=1,2,4)
	Υπερφθοροαλκυλικές σουλφοναμιδο-αιθανόλες & N-αλκυλο-υπερφθοροαλκυλικές σουλφοναμιδο-αιθανόλες (FASE & MeFASE, EtFASE, BuFASE)	- $SO_2NH(R')CH_2CH_2OH$ όπου R´= C_mH2_{m+1} (m=0,1,2,4)
	N-αλκυλουπερφθοροαλκυλικά σουλφοναμιδο-αιθυλο-ακρυλικά & μεθακρυλικά (MeFAS(M)AC, EtFAS(M)AC, BuFAS(M)AC)	$-SO_2N(R')CH_2CH_2OC(O)CH=CH_2$ & $-SO_2N(R')CH_2CH_2OC(O)C(CH_3)=CH_2$ όπου R´=C_mH_{2m+1} (m=1,2,4)
	Υπερφθοροαλκυλικά σουλφοναμιδο-οξικά οξέα & N-αλκυλο υπερφθοροαλκανο σουλφοναμιδο-οξικά οξέα (FASAA και MeFASAA, EtFASAA, BuFASAA)	$-SO_2N(R')CH_2COOH$ όπου R´=C_mH_{2m+1} (m=1,2,4)
	Ημιφθοριωμένα n-αλκάνια & αλκένια (SFA, SFAenes)	$-(CH_2)_mH$ & $-CH=CH(CH_2)_{m-2}H$, με m=2–16 και n=6–16

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Φθοροτελομερείς ουσίες	n:2 Φθοροτελομερείς ιωδίδια (n:2 FTI)	$-CH_2CH_2I$
	n:2 Φθοροτελομερείς ολεφίνες (n:2 FTO)	$-CH=CH_2$
	n:2 Φθοροτελομερείς αλκοόλες (n:2 FTOH)	$-CH_2CH_2OH$
	n:2 Ακόρεστες φθοροτελομερείς αλκοόλες (n:2 FTUOH)	$-CF=CHCH_2OH$
	n:2 Αλκυλικά φθοροτελομερή n:2 μεθακρυλικοί εστέρες (n:2 FTAC, n:2 FTMAC)	$-CH_2CH_2OC(O)CH=CH_2$ $-CH_2CH_2OC(O)C(CH_3)=CH_2$
	n:2 Εστέρες πολυφθοροαλκυλοφωσφορικού οξέος, πολυφθοροαλκυλικά φωσφορικά, φθοροτελομερή φωσφορικά (PAP)	$(-CH_2CH_2O)_xP(=O)(OH)_{3-x}$ όπου x=1 ή 2
	n:2 Φθοροτελομερείς αλδεΰδες & ακόρεστες αλδεΰδες (n:2 FTAL, n:2 FTUAL)	$-CH_2CHO$ & $-CF=CHCHO$
	n:2 Φθοροτελομερείς καρβοξυλικά οξέα & ακόρεστες καρβοξυλικά οξέα (n:2 FTCA ,n:2 FTUCA)	$-CH_2COOH$ & $-CF=CHCOOH$
	n:3 Κορεσμένα οξέα (n:3 Acids) n:3 ακόρεστα οξέα (n:3 UAcids)	CH_2CH_2COOH $-CH=CHCOOH$
	n:2 Φθοροτελομερή σουλφονικά οξέα (n:2 FTSA)	$-CH_2CH_2SO_3H$

Πίνακας 2-2: Κατηγορίες πολυμερών PFAS [20].

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΥΠΟΚΑΤΗΓΟΡΙΑ (ΟΝΟΜΑΣΙΑ)	ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ
Φθοροπολυμερή	PTFE, PVDF, PVF, FEP	$-(CF_2CF_2)_n$, $-(CH_2CF_2)_n$, $-(CH_2CHF)_n$, $-(CF_2CF_2)_n-(CF(CF_3)CF_2)_m-$
Υπερφθοροπολυαιθέρες (PFPEs)		$F-(C_mF_{2m}O-)_nCF_3$ $HOCH_2O-[C_mF_{2m}O-]_nCH_2OH$
Φθοριωμένα πολυμερή πλευρικής αλυσίδας	Φθοριωμένα ακρυλικά και μεθακρυλικά πολυμερή	$-CH-C(O)O-X-C_nF_{2n+1}$ $-C(CH_3)-C(O)O-X-C_nF_{2n+1}$
	Πολυμερή φθοριωμένης ουρεθάνης	$-NHC(O)O-X-C_nF_{2n+1}$
	Πολυμερή φθοριωμένου οξετανίου	$-CH_2OCH_2-R$

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Η ποικιλία των λειτουργικών ομάδων των ουσιών αυτών είναι ο κύριος λόγος της ύπαρξης μεγάλου αριθμού PFAS και των πολλών διαφορετικών εφαρμογών τους.

Σύμφωνα με τη μελέτη του Swedish Chemicals Agency [26] καταγράφηκαν περισσότερες από 3,000 ενώσεις PFAS εμπορικά διαθέσιμες στην παγκόσμια αγορά. Αντίστοιχα, σύμφωνα με τον ΟΟΣΑ το 2018 υπήρχαν 4,700 διαφορετικοί αριθμοί CAS ενώσεων που ανήκουν στην «οικογένεια» των PFAS [27].

Σημαντικό ρόλο στη χημική δομή τους έχει το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας. Για αυτόν τον λόγο συχνά διακρίνονται σε ενώσεις μακράς αλυσίδας (≥7C για τα PFCA και ≥6 για τα PFSA) και ενώσεις βραχείας αλυσίδας (≤7C για τα PFCA και ≤6 για τα PFSA) [28], ορισμό που παρέχει ο ΟΟΣΑ [25].

Ο διαφορετικός αριθμός ατόμων άνθρακα στον παραπάνω διαχωρισμό σε μακράς και βραχείας αλυσίδας ανάμεσα στα PFCA και τα PFSA σχετίζεται με την τάση βιοσσυσώρευσης τους. Ωστόσο, ο ορισμός του ΟΟΣΑ δεν περιλαμβάνει στην ταξινόμηση αυτή άλλες υπερφθοροαλκυλικές ουσίες εκτός των καρβοξυλικών και σουλφονικών [20].

2.3. Φυσικοχημικές Ιδιότητες

Η κατανόηση των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων των PFAS είναι μία πολύ σημαντική διαδικασία, καθώς είναι θεμελιώδης γνώση για την πρόβλεψη της μεταφοράς και της απελευθέρωσης τους στο περιβάλλον [29].

2.3.1. Σταθέροτητα

Η πιο χαρακτηριστική ιδιότητα των PFAS είναι η θερμική, χημική και φυσική/ βιολογική σταθερότητα τους, ιδιότητα που οφείλεται τόσο στον ισχυρό, ομοιοπολικό δεσμό άνθρακα- φθορίου C-F, απόρροια της υψηλής ηλεκτραρνητικότητας του φθορίου και της ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης του με το περιβάλλον μέσω διπόλων όσο και στο μικρό μέγεθος του μορίου του φθορίου. Πιο συγκεκριμένα, η μεγάλη ποσότητα ενέργειας που απαιτείται για τη διάσπαση αυτού του δεσμού είναι υπεύθυνη της σταθερότητας τους σε υψηλές θερμοκρασίες (έως και 1000° C) [30], για την αντοχή τους στη χημική και βιολογική αποικοδόμηση από ισχυρά οξέα,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

αλκαλικούς ή οξειδωτικούς παράγοντες καθώς και για την αδυναμία φωτόλυσης τους [29].

2.3.2. Επιφανειοδραστικότητα

Τα PFAS υπάγονται στις επιφανειοδραστικές ουσίες, καθώς αποτελούνται τόσο από υδρόφοβο όσο και από υδρόφιλο τμήμα, με αποτέλεσμα να τείνουν να μειώνουν την επιφανειακή τάση του υγρού. Ένα άλλο χαρακτηριστικό που επηρεάζει τον υδροφοβικό χαρακτήρα των PFAS είναι η χαμηλή πολωσιμότητα του φθορίου. Παράλληλα, ως επιφανειοδραστικές ουσίες, έχουν την τάση δημιουργίας μικκυλίων, αυξάνοντας τη διαλυτότητα τους στο νερό.

2.3.3. Τάση Ατμών

Μία ακόμη αξιοσημείωτη ιδιότητα των PFAS είναι η χαρακτηριστική τάση ατμών (V_p), δηλαδή η πίεση των ατμών ενός υγρού όταν οι ατμοί και το υγρό βρίσκονται σε ισορροπία σε μία ορισμένη θερμοκρασία που δηλώνει συνήθως την πτητικότητα των ενώσεων. Η ιδιότητα αυτή αποτελεί σημαντικό παράγοντα για τις περιβαλλοντικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα και εν τέλει τη περιβαλλοντική ρύπανση που οφείλεται σε αυτές τις ενώσεις. Καθώς τα PFAS έχουν σχετική χαμηλή τάση ατμών είναι πιο πιθανό να παραμείνουν σε στερεή ή υγρή μορφή, για αυτόν τον λόγο το πιο πιθανό είναι να μεταφερθούν μέσω του εδάφους και μέσω επιφανειακών ή υπόγειων υδάτων. Κυρίως πτητικές πρόδρομες ουσίες των PFAS είναι πιθανό να προσκολλήσουν σε αερομεταφερόμενα σταγονίδια νερού ή σε άλλα αιωρούμενα σωματίδια και να υποστούν ατμοσφαιρική μεταφορά μεγάλης εμβέλειας με αποτέλεσμα να αποικοδομηθούν στη συνέχεια σε ανθεκτικές ενώσεις [31], [32].

2.3.4. Σταθερά Διάστασης Οξέος (pKa)

Τα PFAS θεωρούνται ισχυρά οξέα, η pKa είναι μια χρήσιμη παράμετρος. Για μικρότερου μήκους αλυσίδες (C1 – C5), η pKa αυξάνεται μέχρι και τον αριθμό των πέντε ατόμων άνθρακα και έπειτα μειώνεται. Αντίθετα, για μεγαλύτερου μήκους

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

αλυσίδες (C9 – C11), οι τιμές της pKa μειώνονται αναλογικά με την αύξηση του μήκους της αλυσίδας [30], [33].

2.3.5. Συντελεστής Κατανομής οκτανόλης – νερού

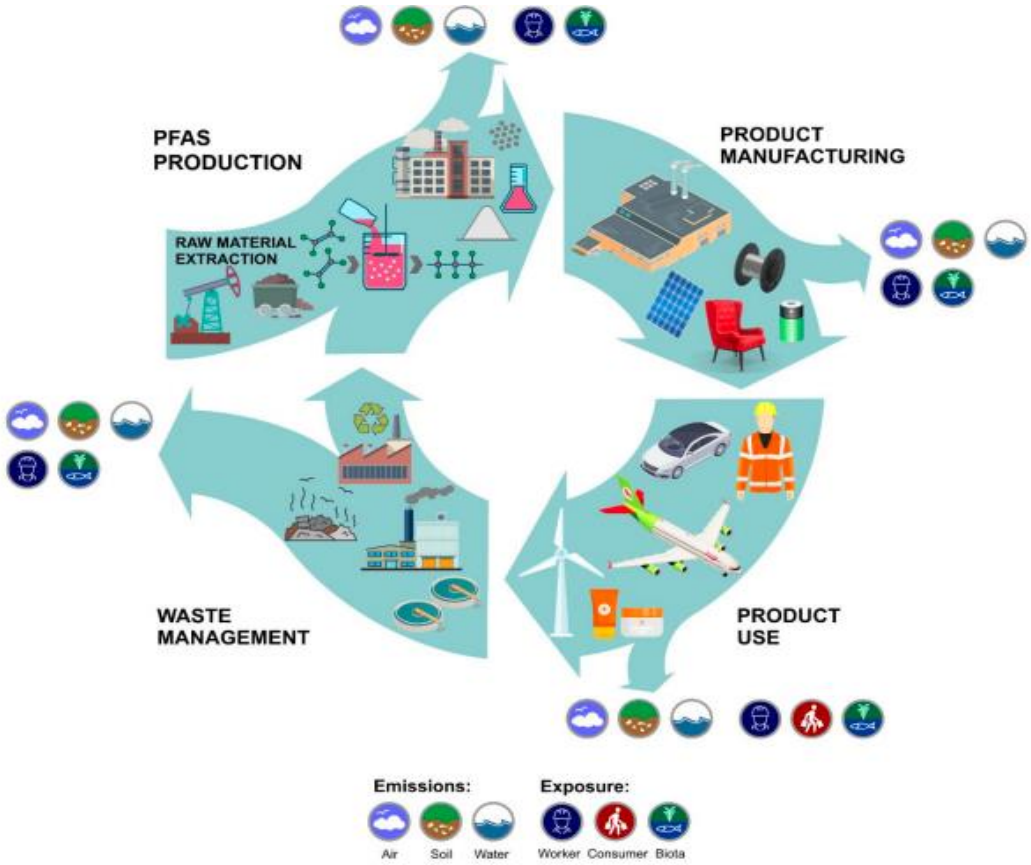
Εκτός από την παράμετρο pKa, ο συντελεστής κατανομής οκτανόλης-νερού (K_{ow}) είναι μια ακόμη σημαντική παράμετρος για τον προσδιορισμό της συμπεριφοράς των PFAS από περιβαλλοντική άποψη. Αποτελεί τον λόγο της συγκέντρωσης μίας ουσίας στο έδαφος και της συγκέντρωσης της σε διάλυμα ή αιώρημα. Λαμβάνοντας υπόψη τον υδρόφοβο αλλά και υδρόφιλο χαρακτήρα των PFAS, ο προσδιορισμός της τιμής K_{ow} παραμένει ένα δύσκολο και αμφιλεγόμενο εγχείρημα [31], [32].

2.4. Προϊόντα & Εφαρμογές

Τα PFAS, τόσο τα πολυμερή όσο και τα μη πολυμερή, χρησιμοποιούνται εδώ και δεκαετίες εκτενώς στη βιομηχανία λόγω των ιδιοτήτων τους όπως π.χ. η αντοχή σε θερμότητα και χημικούς παράγοντες. Ο δεσμός άνθρακα-φθορίου, ο οποίος αποτελεί έναν από τους ισχυρότερους δεσμούς στη φύση σε συνδυασμό με τις μοναδικές φυσικοχημικές ιδιότητες τους τα καθιστούν απαραίτητα συστατικά για την κατασκευή ανθεκτικών προϊόντων παρέχοντας οφέλη στους κατασκευαστές αλλά και τους καταναλωτές.

Ωστόσο από το 2002 με την εφαρμογή κανονισμών υπάρχει μία παγκόσμια τάση για την αντικατάσταση κυρίως των PFAS μακράς αλυσίδας με άλλα βραχύτερων αλυσίδων ή με άλλα προϊόντα μη πολυφθοροαλκυλιωμένα [25].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250



Σχήμα 6: Εκπομπή και ανθρώπινη έκθεση σε PFAS κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής τους [27].

Τα κυριότερα παραδείγματα κατηγοριών προϊόντων ή χρήσεων των PFAS είναι:

- **Βιοκτόνα**

Τα μη πολυμερή PFAS έχουν εφαρμοστεί σε βιοκτόνα είτε ως δραστικά συστατικά (π.χ. το N-EtFOSA χρησιμοποιείται σε δολώματα μυρμηγκιών και γαιοσκωλήκων) [34] είτε ως αδρανή συστατικά (ενισχυτές). Ως ενισχυτές προσδίδουν ιδιότητες όπως διευκόλυνση εξάπλωσης φυτοπροστατευτικών παραγόντων σε έντομα και φύλλα φυτών και αύξηση πρόσληψης από έντομα και φυτά με χρήση μικρής συγκέντρωσης της τάξεως του 0,1%, καθώς είναι εξίσου αποτελεσματικό σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις.

- **Προϊόντα δομικών κατασκευών**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Χρησιμοποιούνται ως υλικό επίστρωσης (ανθεκτικά σε πυρκαγιά και στις καιρικές συνθήκες) σε πλακάκια, πλάκες, σκυρόδεμα ή μέταλλα.

Φθοροπολυμερή, όπως το PTFE και το PVDF, χρησιμοποιούνται σε οικοδομικά υλικά (π.χ. πλακάκι και γυαλί) για να προσδίδουν αντοχή σε περίπτωση επαφής με φλόγα [25].

- **Πυρόσβεση**

Χρησιμοποιούνται σε πυροσβεστικούς αφρούς και στον πυροσβεστικό εξοπλισμό, κυρίως στους αφρούς πυρόσβεσης που χρησιμοποιούνται σε πυρκαγιές που περιλαμβάνουν υγρά. Χρησιμοποιούνται κυρίως λόγω της ικανότητας τους να δημιουργούν μία λεπτή «μεμβράνη» νερού μεταξύ του αφρού και του καυσίμου που καίγεται. Αυτού του είδους η μεμβράνη συμβάλει στην ταχεία εξάπλωση του αφρού σε ολόκληρη την επιφάνεια του φλεγόμενου υγρού ενώ παράλληλα εμποδίζει την εξάτμιση και την εκπομπή θερμότητας του. Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα χρήσης τέτοιους είδους αφρών είναι στην πυρόσβεση φλεγόμενου πετρελαίου σε διυλιστήρια, αεροδρόμια κ.α [26].

- **Κέρωμα στη χιονοδρομία**

Το κερί που χρησιμοποιείται στο σκι έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί μία από τις βασικές πηγές έκθεσης των PFAS στους ανθρώπους μέσω του αέρα, κυρίως για τους επαγγελματίες του συγκεκριμένου αθλήματος.

- **Επιμετάλλωση**

Τα άλατα καλίου, λιθίου, διαιθανολαμίνης και αμμωνίου του PFOS και το 6:2 2FTS εφαρμόζονται στη διαδικασία επιχρωμίωσης, διότι μειώνουν αποτελεσματικά την επιφανειακή τάση.

- **Εξόρυξη**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Ενώσεις με βάση φθοροτελομερή και τα άλατα του PFOS χρησιμοποιούνται για τη βελτίωση της απόδοσης των υγρών εξόρυξης πετρελαίου, φυσικού αερίου, χαλκού και χρυσού. Επίσης, αποτελούν αναστολέα εξάτμισης της βενζίνης και των διαλυτών των υδρογονανθράκων.

- **Πολυμερή**

Τα άλατα αμμωνίου και σπανιότερα νατρίου των PFCA μακράς αλυσίδας (π.χ. PFOA και PFNA) έχουν εφαρμοστεί ως βοηθητικά επεξεργασίας (γαλακτωματοποιητές) σε χαμηλές συγκεντρώσεις στον πολυμερισμό ορισμένων φθοροπολυμερών (π.χ. PTFE, FEP , PFA και PVDF) και φθοροελαστομερή. Μετά το 2006 άρχισαν να αντικαθίστανται τα άλατα μακράς αλυσίδας με βραχύτερων αλυσίδων (π.χ. PFHxA).

- **Μέσα μεταφοράς & Καύσιμα**

Στα αεροσκάφη και στα αυτοκίνητα χρησιμοποιούνται συχνά τόσο στα μηχανικά εξαρτήματα όσο και ως πρόσθετα σε υδραυλικά υγρά για την πρόληψη διαρροής, πυρκαγιάς και διάβρωσης (κυρίως το PFOS).

- **Ενέργεια**

Τα «FEP films» εφαρμόζονται για την κάλυψη ηλιακών συλλεκτών. Το άλας λιθίου των PFAS π.χ. το TFMS χρησιμοποιείται ως ηλετρολύτης κυψελών καυσίμου και μπαταριών.

- **Καλωδίωση**

Λόγω των διηλεκτρικών ιδιοτήτων, της χαμηλής ευφλεκτότητας ή άλλων μηχανικών ιδιοτήτων, τα φθοροπολυμερή όπως PTFE ή PVDF χρησιμοποιούνται ευρέως για καλώδια που χρησιμοποιούνται στις εγκαταστάσεις επικοινωνίας.

- **Αντικολλητική επίστρωση οικιακών προϊόντων**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Τα φθοροπολυμερή (συνήθως PTFE) χρησιμοποιούνται για την επικάλυψη των επιφανειών των μαγειρικών σκευών για να προσδώσουν αντικολλητικές ιδιότητες της τροφής στο σκεύος. Τα αντικολλητικά προϊόντα που έχουν υποστεί επεξεργασία με PTFE αντέχουν σε θερμοκρασίες έως 290° C. Οι επικαλύψεις αποτελούνται από ένα έως τρία στρώματα. Ωστόσο, σε περίπτωση φθοράς των στρώσεων με αιχμηρά αντικείμενα τα PFAS που περιέχονται είναι πιθανό να έρθουν σε επαφή με την τροφή που εισάγεται στο σκεύος.

- **Ιατρικά είδη**

Έχουν συμπεριληφθεί σε μεγάλο αριθμό ευρέως χρησιμοποιούμενων φαρμάκων και ιατρικών συσκευών ή σκευασμάτων. Μερικές από αυτές τις χρήσεις περιλαμβάνουν εμφυτεύματα (λόγω της αδράνειας τους), όπως αγγειακά μοσχεύματα, που χρησιμοποιούνται για την αποκατάσταση καρδιακών προβλημάτων και χειρουργικά πλέγματα για την αποκατάσταση κηλών. Επίσης, βρίσκονται σε ιατρικά εργαλεία όπως οδοντικό νήμα, στο επιφανειοδραστικό υλικό κατασκευής της μεμβράνης που χρησιμοποιείται στις ακτινοβολίες Χ αλλά και στον ιατρικό ρουχισμό, λόγω της αντοχής τους.

- **Χαρτί και συσκευασία**

Η επιφανειακή επεξεργασία με PFAS (προσδίδει ελαιοαπωθητικές ιδιότητες στο χαρτί και σε άλλα μορφοποιημένα προϊόντα πολτού). Η συγκέντρωση στο τελικό προϊόν συνήθως επιτρέπεται να κυμαίνεται από 0.2 έως 1.5% κατά βάρος και να περιέχει έως 45% φθόριο [1].

Επίσης, τα PFAS χρησιμοποιούνται ευρέως σε υλικά που έρχονται σε επαφή με τρόφιμα όπως συσκευασίες έτοιμων γευμάτων ή συσκευασμένων τροφίμων.

- **Κλωστοϋφαντουργία & Δέρμα**

Παράγωγα PFAS καθώς και φθοριούχα πολυμερή πλευρικής αλυσίδας με βάση PASF και FT εφαρμόζονται για την επεξεργασία υφασμάτων, ταπετσαριών, χαλιών

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

και δέρματος, προκειμένου να προσδώσουν αντοχή στο νερό, το λάδι, το έδαφος και τους λεκέδες.

- **Προϊόντα περιποίησης και καλλυντικά**

Πολλά προϊόντα μαλλιών, καλλωπισμού, αντηλιακών και κρέμες για το δέρμα περιλαμβάνουν μια σειρά φθοροτασιενεργών και σε ορισμένες περιπτώσεις το PTFE [35]. Πιο συγκεκριμένα, τα πολυφθοροαλκύλια φωσφονικά οξέα (PAPs/diPAPs) χρησιμοποιούνται συχνά σε αντηλιακές κρέμες, λοσιόν σώματος και άλλα καλλυντικά προϊόντα για να κάνουν τα προϊόντα λιπαντικά και υδατοαπωθητικά [25], [36].

- **Καθαριστικά & Γυαλιστικά προϊόντα**

Συχνά χρησιμοποιούνται στη σύσταση των βερνικιών δαπέδων, πέτρας ή ξύλου καθώς προσδίδουν στο τελικό προϊόν διάφορες επιθυμητές ιδιότητες όπως κατάλληλη διαβροχή, ροή και ομοιόμορφη εφαρμογή στο δάπεδο. Σύμφωνα με την μελέτη [37] σε τέτοιου είδους προϊόντα έχουν ανιχνευθεί συγκεντρώσεις 100-200 μg/mL.

2.5. Λόγοι εξέτασης των PFAS

2.5.1. Ανθεκτικότητα

Ανήκουν στην κατηγορία EOP στο περιβάλλον και κατ' επέκταση στους έμβιους οργανισμούς. Ο ισχυρός δεσμός άνθρακα-φθορίου καθιστά τα PFAS εξαιρετικά ανθεκτικά ως ρύπους αλλά παράλληλα και εξαιρετικά χρήσιμα στην καθημερινότητα μας.

Ένας τρόπος έκφρασης της ανθεκτικότητας μίας ουσίας (και επομένως και των PFAS) είναι ο χρόνος ημιζωής της (ο χρόνος που απαιτείται για να μειωθεί η συγκέντρωση μίας ουσίας στο 50% από την αρχική της σε ένα μέσο), παρόλο που δεν είναι γνωστός ο χρόνος ημιζωής όλων των PFAS ούτε είναι μία εύκολα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

μετρήσιμη παράμετρος. Προς το παρόν είναι γνωστό ότι ορισμένα PFAS έχουν χρόνο ημιζωής στο περιβάλλον μεγαλύτερο από 1000 χρόνια, ενώ κάποια PFAS που αποικοδομούνται σχετικά γρήγορα συχνά τα προϊόντα αποικοδόμησης τους είναι άλλα εξαιρετικά ανθεκτικά PFAS.

Σύμφωνα με τον κανονισμό της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τα πολύ επίμονα χημικά τα κριτήρια με βάση τον χρόνο ημιζωής είναι: μεγαλύτερος από 60 ημέρες στο νερό και 180 ημέρες στα ιζήματα ή στο χώμα.

Τα PFAS είναι εξαιρετικά ανθεκτικά στο περιβάλλον, ενώ οι πιθανοί πρόδρομοί τους, όπως η φθοριοτελομερής αλκοόλη (FTOHs) και οι υπερφθορο-οκτανοσουλφοναμιδικές αιθανόλες (xFOSEs) μετατρέπονται σε PFCA και/ή PFSA, αβιοτικά ή βιοτικά. Τα PFAS βραχείας αλυσίδας είναι γενικά πιο ευκίνητα από τα αντίστοιχα μακράς αλυσίδας και έχουν ήδη ανιχνευθεί σε υπόγεια ύδατα. Μεταξύ όλων των περιβαλλοντικών μέσων, το νερό των ωκεανών είναι πιθανώς η μεγαλύτερη παγκόσμια «δεξαμενή» PFAS, όπως τα PFOA, PFNA. Αντίθετα, αρκετές πρόδρομες ενώσεις τους, όπως τα FTOHs και xFOSes, είναι ημιπτητικές, με αποτέλεσμα να ανιχνεύονται στον αέρα, να μεταφέρονται μέσω των ρευμάτων αέρα και εν τέλει να καταλήγουν εκ νέου στο έδαφος μέσω της διαδικασία της κατακρήμνισης.

2.5.2. Βιοσυσσώρευση

Κατατάσσονται στις βιοσυσσωρευτικές χημικές ουσίες καθώς έχουν ανιχνευθεί παγκοσμίως στον ανθρώπινο οργανισμό και στα ζώα. Δεν απεκκρίνονται ή απεκκρίνονται σε μικρές ποσότητες με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται βιομεγέθυνση μέσω των τροφικών αλυσίδων.

Δεν επεξεργάζονται όλοι οι οργανισμοί τα PFAS με τον ίδιο τρόπο. Έχουν αποδειχθεί διαφορές μεταξύ τόσο των φύλων όσο και των ειδών. Αντίστοιχα, σημαντικό ρόλο έχει και η δομή της εκάστοτε ένωσης και κατ' επέκταση οι ιδιότητες της.

Συνοπτικά, τα PFAS μακράς αλυσίδας έχουν μεγάλο χρόνο παραμονής στο ανθρώπινο σώμα και εξαλείφονται αργά, σε κλίμακα ετών. Τείνουν να συσσωρεύονται σε όργανα πλούσια σε πρωτεΐνες όπως ήπαρ, νεφροί και οστά

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

όπου μεταφέρονται μέσω του αίματος [25]. Αντίστοιχα, ο χρόνος ημιζωής είναι μεγαλύτερος για τα σουλφονικά σε σχέση με τα καρβοξυλικά PFAS, για τα οποία είναι ακόμη μικρότερος για τα διακλαδισμένα ισομερή [38].

Αντίθετα, τα PFAS βραχείας αλυσίδας είναι πιθανό να εξαλειφθούν πιο γρήγορα και φαίνεται να συσσωρεύεται σε διαφορετικά όργανα όπως νεφρός, σπλήνας, εγκέφαλος και πνεύμονας [39].

Τέλος, υπάρχει άμεση συσχέτιση του χρόνου ημιζωής με τη δοσολογία, όπου παρατηρείται μεγαλύτερος χρόνος ημιζωής των PFAS στο αίμα για τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις [38].

Πίνακας 2-3: Χρόνο ημιζωής (ημέρες) του PFBA, PFBS, PFHxA, PFHxS, PFOA και PFOS σε αίμα αρουραίων, μαϊμούς και ανθρώπου [25].

$t_{1/2}$ (ημέρες)	PFBA	PFBS	PFHxA	PFHxS	PFOA	PFOS
Αρουραίος	0.3	0.2	0.05-0.2	7	5	25
Μαϊμού	2	4	1	100	21	45
Άνθρωπος	3-4	26	< 28	3000	1000	1500

2.5.3. Ευκινησία

Λόγω της υψηλής υδατοδιαλυτότητας των PFAS και του γεγονότος ότι τείνουν να μην συνδέονται εύκολα με άλλες ενώσεις, είναι εξαιρετικά ευκίνητα στο περιβάλλον (ιδιαίτερα οι βραχείς αλυσίδες) και εισχωρούν γρήγορα στα υπόγεια ύδατα μέσω του εδάφους.

Εκτός από τη μετανάστευση από το έδαφος στο υπόγειο νερό, τα PFAS βραχείας αλυσίδας μπορούν επίσης να μεταναστεύσουν από το έδαφος στα φυτά και έχει αποδειχθεί ότι συσσωρεύονται σε βρώσιμα μέρη φρούτων και λαχανικών [40].

2.5.4. Τοξικότητα

Ένας μεγάλος αριθμός από μελέτες που έχουν διεξαχθεί συνδέει επιπτώσεις στην υγεία των ανθρώπων με τα επίπεδα των PFAS στον οργανισμό. Ωστόσο, υπάρχει πληθώρα παραγόντων που κατέχει σημαντικό ρόλο στις επιπτώσεις αυτές όπως

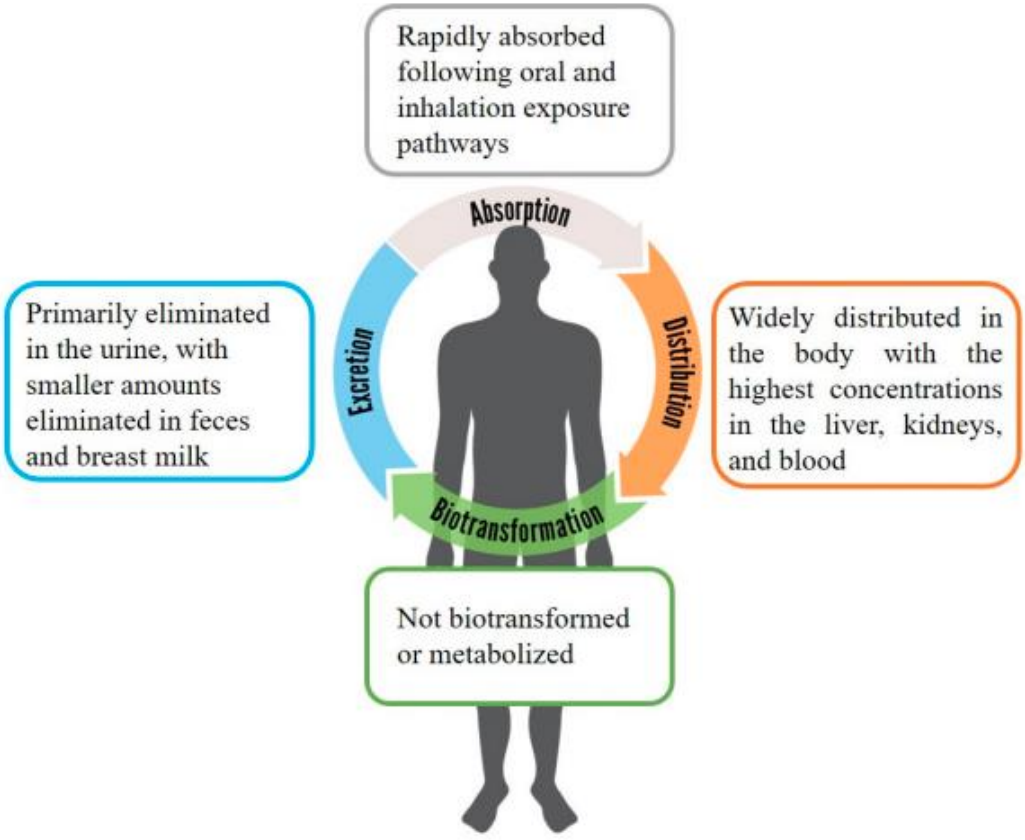
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

το φύλο, η ηλικία, η έκθεση και το είδος της χημικής ουσίας (χημική σύνθεση, μήκος αλυσίδας, διακλαδώσεις).

2.6. Τοξικοκινητική

Σημαντικό ρόλο στην κατανόηση της δράσης των PFAS στον ανθρώπινο οργανισμό κατέχει η τοξικοκινητική. Πρόκειται για τη μελέτη των διεργασιών μέσω των οποίων ο οργανισμός διαχειρίζεται τις δυνητικώς τοξικές ουσίες. Περιλαμβάνει την κατανόηση της απορρόφησης, της μεταφοράς, της βιομετατροπής και της απέκκρισης μίας χημικής ουσίας από έναν οργανισμό [41].

Με την αξιολόγηση της τοξικοκινητικής μεμονωμένων PFAS είναι εφικτό σε πολλές περιπτώσεις να καθοριστεί με ποιόν τρόπο επηρεάζουν τον ανθρώπινο οργανισμό και στη συνέχεια να βρεθεί ο κατάλληλος τρόπος προφύλαξης [42].



Σχήμα 7: Στάδια τοξικοκινητικής [42].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

2.6.1. Εισαγωγή

Ως προς την εισαγωγή στον οργανισμό γίνεται μέσω των κύριων οδών έκθεσης (αναπνευστική, διαδερμική, πεπτική οδός). Με βάση μελέτες σε ζώα είναι γνωστό ότι η εισαγωγή των PFAS γίνεται σχεδόν πλήρως από το στόμα και την εισπνοή, ενώ η απορρόφηση από το δέρμα φαίνεται να είναι αμελητέα [38].

2.6.2. Απορρόφηση

Ακολουθώντας την πορεία της χημικής ουσίας έπειτα από την εισαγωγή της στον ανθρώπινο οργανισμό φαίνεται ότι η απορρόφηση τόσο των PFAS μακράς όσο και βραχείας αλυσίδας γίνεται σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα.

Σύμφωνα με τις αρχές της τοξικοκινητικής, μία χημική ουσία αξιολογείται με βάση τη διάρκεια (χρόνο) που απαιτείται για το ήμισυ της ποσότητας της να προκαλέσει ένα αποτέλεσμα, συνήθως το αποτέλεσμα αυτό είναι να φτάσει στο όργανο-στόχο και αυτό το ορίζει ως χρόνο ημιζωής.

Μελέτες που έχουν διεξαχθεί για το PFOA σε πειραματόζωα εντόπισαν ότι υπάρχει σημαντική διαφορά στο χρόνο ημιζωής στα θηλυκά και αρσενικά πειραματόζωα, καθώς για τα μεν θηλυκά ο χρόνος ημιζωής έχει υπολογιστεί στη 1,1 ώρα ενώ για τα αρσενικά 10 ώρες. Λόγω αυτού αποδεικνύεται ότι σημαντικό ρόλο κατέχει ο ρόλος του ορμονικού συστήματος στην τοξικοκινητική των PFAS. Αντίστοιχα, φαίνεται συχνά να ενεργούν ως ενδοκρινικοί διαταρράκτες χωρίς να έχει αποδειχθεί πλήρως [42].

2.6.3. Διανομή

Τα PFAS, στη συνέχεια, διανέμονται σε όλο το σώμα μέσω του πλάσματος, όπου και δεσμεύονται από την λευκωματίνη και άλλες πρωτεΐνες ορού. Σε κυτταρικό επίπεδο, συνδέονται κυρίως στις επιφάνειες των κυτταρικών μεμβρανών [38]. Εξωαγγειακά, οι υψηλότερες συγκεντρώσεις των PFAS ανιχνεύονται στο ήπαρ και τα νεφρά, χωρίς να έχει ταυτοποιηθεί ο μηχανισμός μεταφοράς τους από το αίμα στα όργανα – στόχους. Αξίζει όμως να σημειωθεί ότι έχει εντοπιστεί η μεταφορά των PFAS στον πλακούντα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης [43] με λιγότερη

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

πιθανή τη μεταφορά μακρών αλυσίδων που περιέχουν σουλφονική ομάδα (π.χ. PFBS).

2.6.4. Βιομετατροπή

Όσον αφορά την βιομετατροπή των ουσιών στον οργανισμό, με βάση πειραματικές μελέτες για τα πιο συνήθη PFAS (που αναφέρονται στο πιο πρόσφατο ATSDR τοξικολογικό προφίλ) δεν προέκυψε κάποια χημική ή βιολογική τροποποίηση ή μεταβολή εντός του οργανισμού [42].

2.6.5. Απέκκριση

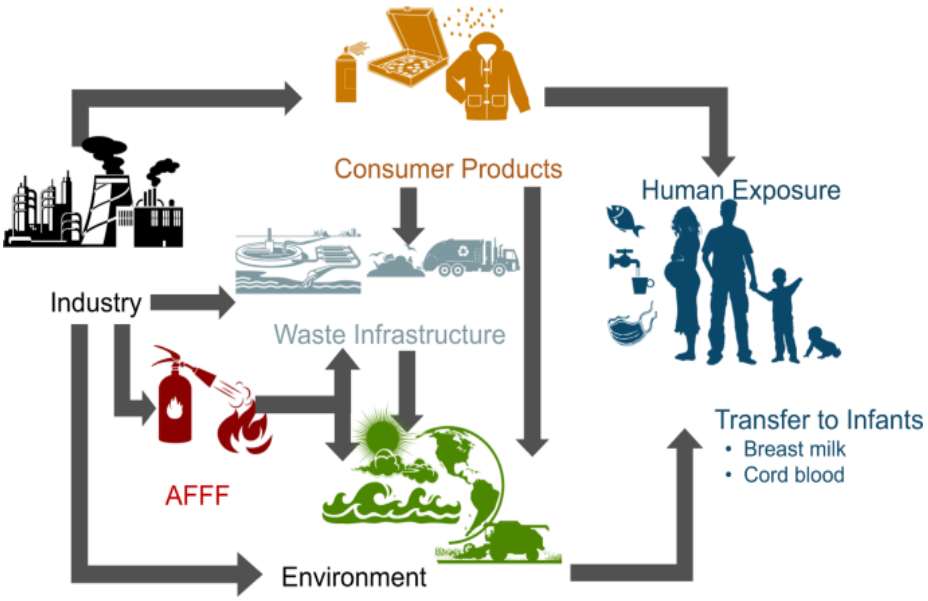
Η κύρια οδός αποβολής από το σώμα είναι με τα ούρα μέσω των νεφρών. Ο θεμελιώδης μηχανισμός για τη νεφρική λειτουργία αποβολής, ο οποίος επηρεάζει τον χρόνο ημιζωής τους και στο πλάσμα, βασίζεται στην παρουσία των πρωτεϊνών μεμβρανικής μεταφοράς και αποτελείται από τρεις διεργασίες που περιλαμβάνουν τη σπειραματική διήθηση, τη νεφρική σωληνιαριακή έκκριση και τη νεφρική σωληνιαριακή επαναρρόφηση [38]. Η επαναρρόφηση αυτή, η οποία στους ανθρώπους αγγίζει το 99% σε αντίθεση με τα πειρματόζωα, αποτελεί έναν κύριο λόγο για το μεγάλο χρόνο ημιζωής των PFAS στο ανθρώπινο πλάσμα και την πολύ μικρή απέκκριση τους. Επίσης, τα φθοροτελομερή αποβάλλονται κυρίως από τα κόπρανα με διαφορετικό μηχανισμό. PFAS έχουν ανιχνευθεί επίσης και στο μητρικό γάλα, στα εμμηνορροϊκά υγρά, γεγονός που δικαιολογεί σε έναν βαθμό τη διαφορά συγκέντρωσης τους μεταξύ των δυο φύλλων, το οποίο παραπέμπει πάλι στη διαφορετική επιρροή που έχουν στο ορμονικό σύστημα.

Κατά κανόνα, με βάση την υπάρχουσα γνώση από *in vivo* μελέτες, τα PFAS μακράς αλυσίδας τείνουν να έχουν πιο αργό ρυθμό νεφρικής αποβολής άρα και μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής. Ωστόσο, το PFBA, παρόλο που είναι μία ένωση με μόλις 3 άνθρακες, έχει μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής σε σύγκριση με PFAS μεγαλύτερης αλυσίδας, καθώς δε φαίνεται να αποτελεί υπόστρωμα της πρωτεΐνης μεταφοράς $Oatp_1a_1$. Μία ακόμη εξαίρεση είναι το PFHxS, το οποίο έχει μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής στους ανθρώπους από το PFOA και το PFOS [38], [42].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

2.7. Οδοί έκθεσης

Η απελευθέρωση των PFAS στο περιβάλλον προκαλεί τη ρύπανση του νερού, του εδάφους και του αέρα. Οι άνθρωποι πιθανότατα εκτίθενται σε αυτές τις χημικές ουσίες είτε καταναλώνοντας νερό και φαγητό μολυσμένο με PFAS, είτε μέσω της τροφικής αλυσίδας. Παράλληλα, η έκθεση γίνεται χρησιμοποιώντας προϊόντα που περιέχουν PFAS [44].



Σχήμα 8: Επισκόπηση των οδών έκθεσης PFAS του ανθρώπινου οργανισμού [23].

Η ανθρώπινη έκθεση στα PFAS και τις πιθανές πρόδρομές τους ουσίες μπορεί να χωριστεί σε τρεις κύριους τύπους: επαγγελματική έκθεση, γενική έκθεση και έκθεση από τη μητέρα στο έμβρυο ή το βρέφος.

Η επαγγελματική έκθεση εμφανίζεται κατά την εκτέλεση εργασιακών καθηκόντων. Για παράδειγμα, υψηλά επίπεδα PFAS βρέθηκαν σε εργαζομένους σε εγκαταστάσεις παραγωγής που σχετίζονται με τα PFAS και σε επαγγελματίες κεριού σκι που είναι υψηλότερα από τα επίπεδα PFAS που ανιχνεύθηκαν στον γενικό πληθυσμό.

Η γενική έκθεση του ανθρώπου στα PFAS συμβαίνει μέσω εσωτερικού και εξωτερικού αέρα και αερολυμάτων, πόσιμου νερού, σκόνης και τροφίμων.

Η έκθεση από μητέρα σε βρέφος συμβαίνει με δύο τρόπους:

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

1. Τα PFCA και τα PFSA που υπάρχουν στο μητρικό αίμα περνούν μέσω του πλακούντα και προσβάλλουν στο έμβρυο.
2. Οι θηλάζουσες μητέρες πιθανότατα μεταφέρουν PFAS στα βρέφη τους μέσω του θηλασμού [23].

2.7.1. Δεδομένα έκθεσης – Βιβλιογραφική ανασκόπηση

Ήδη από το 1968, παρατηρήθηκε ένα ασυνήθιστα υψηλό μη ιοντικό κλάσμα φθορίου στο ανθρώπινο πλάσμα. Μετά από επακόλουθη ανίχνευση μίας οργανικής ουσίας με φθόριο διαπιστώθηκε ότι ταυτίζεται με τη δομή του PFOA. Οι ερευνητές θεώρησαν ότι η αιτία βρίσκεται στη χρήση εμπορικών προϊόντων που περιέχουν τέτοιου είδους οργανικές ενώσεις ανθρωπογενούς προελεύσεως. Μετά από μερικά χρόνια, μελέτες ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης εντόπισαν PFOA, PFOS, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFHxS, MeFOSAA σε διάφορες κοινότητες.

Μελέτες δείχνουν ότι τα επίπεδα PFOA στο μητρικό αίμα μειώθηκαν στο 54% μετά από έξι μήνες και σε 7% μετά από 12 μήνες θηλασμού σε σύγκριση με τα επίπεδα στο αίμα τους κατά τη γέννηση, ενώ τα επίπεδα PFOA στον ορό βρεφών έξι μηνών ήταν 4,6 φορές υψηλότερα από τα επίπεδα στο αίμα της μητέρας κατά τη γέννηση. Μια άλλη νορβηγική μελέτη υπολόγισε ότι τα βρέφη που θηλάζουν ηλικίας περίπου 6 μηνών προσλαμβάνουν 4.1 ng PFOA ανά κιλό σωματικού βάρους, που είναι 15 φορές υψηλότερο από την πρόσληψη των ενηλίκων [25].

Σήμερα γίνεται προσπάθεια αντικατάστασης των ενώσεων PFAS μακρών ανθρακικών αλυσίδων με αντικαταστάθηκαν από ουσίες με μικρότερο μήκος ανθρακικής αλυσίδας (PFBA, PFHxA, PFBS, 6:2 FTSA, 6:2 FTCA) και ουσίες με άλλες λειτουργικές ομάδες, όπως ο σουλφονικός υπερφθοροαιθέρας και καρβοξυλικά οξέα (HFPO-DA),HFPO-TA, 6:2 Cl-PFESA, ADONA, MBP_2). Οι παραπάνω ουσίες αποβάλλονται ταχύτερα από το αίμα στα πειραματόζωα, ενώ οι χρόνοι ημιζωής της αποβολής ποικίλλουν από ώρες έως αρκετές ημέρες στον αρουραίο, το ποντίκι και τον πίθηκο, ωστόσο στον άνθρωπο ο χρόνος ζωής μπορεί να είναι έως και αρκετοί μήνες [39].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Από το 2002, εφαρμόσθηκε σταδιακή κατάργηση παραγωγής και χρήσης PFOS και PFOA στις Ηνωμένες Πολιτείες. Ως συνέπεια αυτού, από το 1999-2000 έως το 2017-2018, μειώθηκαν τα επίπεδα PFOS στο αίμα κατά περισσότερο από 85% και τα επίπεδα PFOA μειώθηκαν κατά περισσότερο από 70%. Η μείωση των συγκεντρώσεων των PFAS στο αίμα μετά τη σταδιακή κατάργηση της παραγωγής και των πρόδρομων ουσιών έχουν αναφερθεί σε διάφορους πληθυσμούς παγκοσμίως και αποτελούν μια απόδειξη της αποτελεσματικότητας των βιομηχανικών αλλαγών και των ρυθμιστικών ενεργειών. Ωστόσο, μετά τη σταδιακή κατάργηση της χρήσης PFOS και PFOA σε πολλά προϊόντα, το PFHxS και το PFHxA χρησιμοποιήθηκαν ως αρχικοί αντικαταστάτες.

Σημαντικές αυξήσεις σε PFNA, PFDA και PFUnDA και καμία αλλαγή στο PFHxS παρατηρήθηκε σε γυναίκες της Σουηδίας και της Δανίας έως το 2015, ενώ συγκεντρώσεις στο αίμα των PFNA, PFDA, PFUnDA και PFDoDA από πολλές χώρες δεν δείχνουν σημαντική αλλαγή [45].

Ομοίως, οι συγκεντρώσεις PFHxS στο αίμα Αμερικάνων συμμετεχόντων μέσω δεδομένων από τον οργανισμό NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) δεν εμφάνισαν σημαντική τάση μεταξύ 1999-2004 και αυξήθηκαν από το 2005 έως το 2008 [46].

Επομένως, η κατανόηση της σχετικής σημασίας αυτών των διαφορετικών οδών έκθεσης είναι κρίσιμη για την ερμηνεία των οδηγιών στα κρίσιμα χρονικά διαστήματα εφαρμογής τους όσον αφορά τις συγκεντρώσεις PFAS στον ορό που μετρήθηκαν σε μελέτες βιοπαρακολούθησης για την πρόβλεψη μελλοντικών κινδύνων έκθεσης [23].

Η σταδιακή κατάργηση των PFOS και PFOA και των προδρόμων τους οδήγησε στην αυξημένη παραγωγή ενώσεων βραχείας αλυσίδας και δομικά παρόμοιων εναλλακτικών ενώσεων που απαιτούν μια πιο ολιστική προσέγγιση για τον προσδιορισμό της ανθρώπινης έκθεσης από φθοριούχες ενώσεις.

Σε πειράματα σε ζώα, το PFOS και το PFOA παρουσιάζουν μέτρια οξεία τοξικότητα. Η θανατηφόρα δόση με 50% θνησιμότητα (LD_{50}) για το PFOS είναι **251 mg/kg** για μια εφάπαξ από του στόματος δόση σε αρουραίους. Οι τιμές LD_{50} για το PFOA κυμαίνονται από 430 έως 680mg/kg με μέσο όρο **540 mg/kg την ημέρα**. Η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

θανατηφόρα συγκέντρωση με 50% θνησιμότητα (LC_{50}) για 1 ώρα εισπνοής αερομεταφερόμενης σκόνης μολυσμένης με PFOS ήταν **5,2 mg/L** για αρουραίους και **0,98 mg/L** για εισπνοή PFOA αντίστοιχα. Για δερματική έκθεση το LC_{50} προσδιορίστηκε **2.000 mg /kg** για το PFOA σε κουνέλια [47].

Τα μη καρκινικά τελικά σημεία των PFAS σε μελέτες σε ζώα είναι χαμηλότερης συγκέντρωσης δόσης από τα τελικά σημεία του καρκίνου σε ανθρώπινους πληθυσμούς και επομένως καταλήγουν στη ρύθμιση συντηρητικών ορίων. Αντίστοιχα, οι ηπατοτοξικές και οι μεταβολικές επιδράσεις, όπως η ανοσοτοξικότητα και η αναπτυξιακή τοξικότητα που προκαλούν τα PFAS έχουν τις ισχυρότερες συσχετίσεις στις μελέτες για την ανθρώπινη υγεία, αλλά τα αποτελέσματά τους προκύπτουν με χαμηλές δόσεις που σχετίζονται περισσότερο με περιβαλλοντική έκθεση [23], [40].

2.8. Επιπτώσεις στην υγεία

Οι περισσότερες μελέτες σε ζώα (in vivo) πραγματοποιούν δόσεις PFAS που είναι υψηλότερες από τις δόσεις που κατά μέσο όρο εκτίθενται οι άνθρωποι στο περιβάλλον. Αυτές οι μελέτες σε ζώα έχουν επιβεβαιώσει ότι τα PFAS προκαλούν βλάβη στο ήπαρ και στο ανοσοποιητικό σύστημα, όπως και χαμηλό βάρος γέννησης, γενετικές ανωμαλίες, καθυστερημένη ανάπτυξη και θανάτους νεογνών στα πειραματόζωα. Παρόλα αυτά δεν υπάρχει πλήρης συσχέτιση των αποτελεσμάτων στα πειραματόζωα και στον άνθρωπο για αυτόν τον λόγο χρειάζεται σε κάθε περίπτωση να γίνεται εκτίμηση της αντιστοιχίας της έκθεσης και των πιθανών επιπτώσεων στον άνθρωπο [40].

Επίσης πολλές επιδημιολογικές έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί σε μια προσπάθεια να εξεταστεί η συσχέτιση των συγκεντρώσεων των PFAS με πολλών ειδών μορφές καρκίνου, ανοσοποιητικές, αναπαραγωγικές, ενδοκρινικές και αναπτυξιακές διαταραχές.

Αναλυτικότερα, έχουν συσχετισθεί με:

- αναπτυξιακές καθυστερήσεις στο έμβρυο και το παιδί [48], μειωμένη γονιμότητα [49] και αλλαγές στις ενδογενείς ορμόνες (PFOA, PFOS)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

- αυξημένα επίπεδα λιπιδίων στο αίμα, ιδιαίτερα της ολικής χοληστερόλης και της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτείνης (LDL) (PFOA, PFOS, PFNA PFDeA)
- αλλαγές στο ανοσοποιητικό σύστημα
- αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος
- αλλαγές στα ηπατικά ένζυμα (αύξηση ενζύμων ορού – μείωση επιπέδων χολερυθρίνης ορού) με αποτέλεσμα πιθανή ηπατική βλάβη (PFOA, PFOS, PFHxS)
- καρκίνος του προστάτη, των νεφρών και των όρχεων [50]
- αύξηση κινδύνου διάγνωσης άσθματος (PFOA)
- ενδοκρινικές επιδράσεις σε δοκιμές in vitro και in vivo έδωσαν οι ενώσεις 8:2 PAP, 8:2 FTOH και PFOA.
- μειωμένη ανοσοαπόκριση σε συνήθεις παιδικούς εμβολιασμούς σε παιδιά (PFOA, PFOS).
- Αυξημένος κίνδυνος θυροειδικής νόσου με αυξημένα επίπεδα PFOA, PFOS και συσχέτιση των τιμών αυτών με τις τιμές της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH), ολικής τριιωδοθυρονίνης (T3) και της θυροξίνης (T4) χωρίς να έχει αποδειχθεί σαφής αιτιολογική σχέση [11].

Health Effect Endpoint	PFOA	PFOS	PFHxS	PFNA	PFDA	PFUnA	PFHpA	PFBS	PFBA	PFDoDA	PFHxA	FOSA
Body weight	•	•	•	•	•	•				•		•
Respiratory	•											
Cardiovascular	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Gastrointestinal		•										
Hematological	•	•										
Musculoskeletal	•	•	•	•								
Hepatic	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•		
Renal	•	•	•	•	•			•		•	•	
Dermal												
Ocular												
Endocrine	•	•	•	•	•	•				•		
Immunological	•	•	•	•	•	•	•	•		•	•	•
Neurological	•	•	•	•								
Reproductive	•	•	•	•	•	•		•		•	•	•
Developmental	•	•	•	•	•	•	•		•	•		•
Other noncancer	•	•	•	•	•	•	•					•
Cancer	•	•	•	•	•	•	•			•		•

Σχήμα 9: Επιπτώσεις στην υγεία συγκεκριμένων PFAS με βάση τις επιδημιολογικές μελέτες [25].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Εκτός από τις μελέτες τοξικότητας, μια μεγάλη επιδημιολογική μελέτη (69.000 ατόμων) βρήκε πιθανή σχέση μεταξύ των αυξημένων επιπέδων PFOA στο αίμα και των ακόλουθων ασθενειών: υψηλή χοληστερόλη (υπερχοληστεραιμία), ελκώδης κολίτιδα, παθήσεις του θυρεοειδούς, καρκίνος των όρχεων, καρκίνος των νεφρών, προεκλαμψία και αυξημένη αρτηριακή πίεση κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης [25].

Το 2017, το PFOA ταξινομήθηκε ως **πιθανό καρκινογόνο** για τον άνθρωπο από τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας για τον Καρκίνο από τον παγκόσμιο οργανισμό IARC (International Agency for Research of Cancer). Επιπλέον, τμήματα του ευρωπαϊκού πληθυσμού βρέθηκαν να υπερβαίνουν την ανεκτή εβδομαδιαία πρόσληψη των 4,4 ng/kg σωματικού βάρους με βάση την εκτιμώμενη χαμηλότερη δεσμευμένη έκθεση σε PFAS και επίσης σύμφωνα με τα αναφερόμενα επίπεδα ορού [51].

Λόγω της πανταχού παρούσας έκθεσης του γενικού πληθυσμού σε PFAS και των ενδείξεων δυσμενών επιπτώσεων στην υγεία, η αξιολόγηση, ο έλεγχος και η πρόληψη της έκθεσης σε PFAS είναι μείζον ζήτημα δημόσιας υγείας. Έτσι, τα PFAS προστέθηκαν στον κατάλογο ουσιών πρώτης προτεραιότητας του πανευρωπαϊκού έργου HBM4EU (European Human Biomonitoring Initiative) [52].

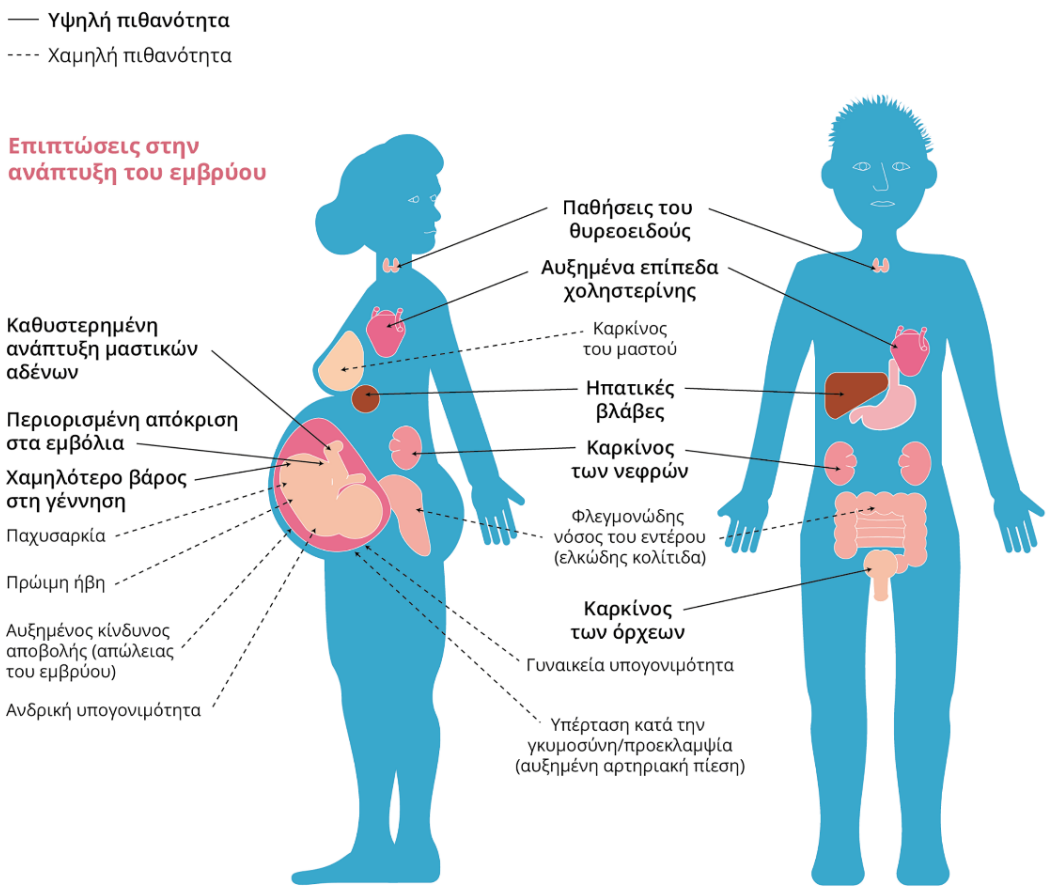
Αρκετές μελέτες έχουν ασχοληθεί με τις συνέπειες στην υγεία λόγω της προγεννητικής και της παιδική έκθεσης σε PFAS. Αυτές οι μελέτες έχουν δείξει ότι επηρεάζεται:

- η ανάπτυξη κατά τη μεταγενέστερη παιδική ηλικία κυρίως λόγω χαμηλότερης απόκρισης του ανοσοποιητικού συστήματος
- τα επίπεδα σεξουαλικών ορμονών είναι χαμηλότερα και καθυστερεί η σεξουαλική ωρίμανση
- το βάρος στη μετέπειτα παιδική ηλικία με αποτέλεσμα την ανάπτυξη παχυσαρκίας (αυξημένος δείκτης μάζας σώματος)
- η λειτουργία του θυροειδούς αδένα σε έφηβα αγόρια
- η σωματική ανάπτυξη εμβρύων και το βάρος γέννησης, τα επίπεδα και στις δύο περιπτώσεις είναι μειωμένα [28].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Η προγεννητική έκθεση σε τοξικές ουσίες έχει αναγνωριστεί ως ιδιαίτερης σημασίας επειδή το ανοσοποιητικό σύστημα αναπτύσσεται εκτενώς στη μήτρα, γεγονός που μπορεί ενδεχομένως να οδηγήσει σε υψηλότερη ευαισθησία του εμβρύου σε ανοσοτοξικές ουσίες μετά την έκθεση [53].

Εκτός από τις ανεπιθύμητες ενέργειες που εμφανίζονται στην πρώιμη παιδική ηλικία, οι ανταποκρίσεις του εμβρύου σε τοξικές ουσίες μπορεί να οδηγήσουν σε επίμονες αλλαγές σε όλη τη μετέπειτα ζωή, οδηγώντας πιθανώς σε προδιάθεση για καρκίνο και ανοσολογικές ασθένειες [54].



Σχήμα 10: Επιπτώσεις των PFAS στην ανθρώπινη υγεία [55].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

2.9. Αξιολόγηση Κινδύνου (Risk Assesssment)

Βάσει των πρόσφατων δεδομένων του National Health and Nutrition Examination Survey, ο γεωμετρικός μέσος όρος των επιπέδων στον ορό για το σύνολο του πληθυσμού έχει ως εξής:

PFOA: 1,42 ng/mL (95% του γενικού πληθυσμού ≤ 3,77 ng/mL)

PFOS: 4,25 ng/mL (95% του γενικού πληθυσμού ≤ 14,6 ng/mL)

PFHxS: 1,08 ng/mL (95% του γενικού πληθυσμού ≤ 3,70 ng/mL)

Λόγω της εναπόθεσης κυρίως στο αίμα, το ήπαρ και τα νεφρά, το αίμα θεωρείται η καταλληλότερη μήτρα για την αξιολόγηση της έκθεσης σε αυτές τις ουσίες στην ανθρώπινη βιοπαρακολούθηση σε σύγκριση με υποστρώματα όπως τα ούρα, τα μαλλιά, το σάλιο ή ο εκπνεόμενος αέρας [39].

Είναι δύσκολο να παρασχεθούν σαφείς συμβουλές σχετικά με τον τρόπο μείωσης της έκθεσης των ανθρώπων σε PFAS επειδή υπάρχουν πολλές πιθανές πηγές έκθεσης. Είναι σημαντικό να κατανοήσουμε ότι ακόμα κι αν η πηγή της έκθεσης ενός ατόμου εξαλειφθεί πλήρως, θα χρειαστούν χρόνια για τη μείωση των επιπέδων της επιβάρυνσης του οργανισμού του λόγω της βιοσσυσώρευσης. Οι βιολογικοί χρόνοι ημιζωής ποικίλλουν ανάλογα με το PFAS. Εκτιμήσεις ημιζωής για τα τέσσερα πιο μελετημένα PFAS (PFOA, PFOS, PFHxS, PFNA) κυμαίνονται από περίπου 2 έως 8 χρόνια [11], [56].

2.9.1. Νομοθετικά όρια

Κατά τη διαδικασία διαχείρισης του κινδύνου (Risk Management) καθορίζονται οι συνθήκες ελέγχου για τις χημικές ουσίες που είναι πιθανό να προκαλέσουν βλάβη. Οι συνθήκες ελέγχου εξετάζουν κάθε πτυχή από το στάδιο σχεδιασμού και ανάπτυξης της ουσίας, τον τρόπο παραγωγής, τις χρήσεις της χημικής ουσίας, την εισαγωγή/εξαγωγή της έως και την ποσότητα ή τη συγκέντρωση που απελευθερώνεται στο περιβάλλον. Υπάρχει πλήθος εργαλείων για τη διαχείριση των ουσιών αυτών όπως κανονισμοί, κανόνες χρήσης και εθελοντικοί έλεγχοι. Όσον

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

αφορά τα PFAS λόγω της αυξανόμενης ευαισθητοποίησης σχετικά με τις επίμονες, βιοσυσσωρευτικές και τοξικές ιδιότητες τους έχουν θεσπιστεί και ισχύουν ρυθμιστικά μέτρα για τη μείωση της έκθεσης σε αυτές τις χημικές ουσίες από το 2000 (U.S EPA). Ωστόσο, μέχρι και σήμερα, η έκθεση σε PFAS υφίσταται λόγω του υψηλού δυναμικού βιοσυσσώρευσης τους.

Εκτός όμως των ορίων που προτείνονται από τους οργανισμούς, μέσω των πειραματικών διαδικασιών και των μελετών, κάποιοι οργανισμοί όπως η U.S. EPA και ο ΟΟΣΑ σε συνεργασία με τους βασικότερους παραγωγούς των PFAS, προσπάθησαν να μειώσουν τις εκπομπές των ουσιών αυτών, κυρίως των PFOS, των PFOA και των πρόδρομων ενώσεων τους, έως το 2015 (U.S. EPA 2017a). Αποτέλεσμα των ενεργειών αυτών φαίνεται να είναι μία μικρή πτώση της παραγωγής των μορίων μεγάλου μήκους αλυσίδων και αύξηση των μικρού μήκους PFAS, όπως τα GenX.

Όσον αφορά την Ευρωπαϊκή Ένωση, οι πρώτοι κανονισμοί τέθηκαν σε ισχύ το 2006 και το 2017 αντίστοιχα, στοχεύοντας κυρίως στο PFOS και PFOA καθώς και άλλα PFAS που διασπώνται σε αυτά. Ωστόσο, τον Φεβρουάριο του 2023, τέθηκε σε ισχύ ένας «καθολικός» περιορισμός σε όλες τις εφαρμογές που καλύπτει περίπου 200 PFAS συμπεριλαμβανομένων των φθοροπολυμερών, των φθορο-αερίων. Αυτός ο περιορισμός καλύπτει PFAS μήκους μοριακής αλυσίδας (C9-14). Υπάρχουν επίσης προτάσεις περιορισμού για τα PFHxA και PFHxS καθώς και χημικά που αποικοδομούνται σε αυτά [22].

Επιπλέον, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή έχει ξεκινήσει ήδη δύο μελέτες που υπάγονται στο REACH σχετικά με έναν πιθανό περιορισμό που καλύπτει όλες τις χρήσεις του PFAS σε πυροσβεστικούς αφρούς και υφάσματα (συμπεριλαμβανομένων ταπετσαριών, ενδυμάτων, χαλιά και δέρμα). Αυτές είναι από τις χρήσεις με τις μεγαλύτερες εκπομπές στο περιβάλλον [27].

Τέλος, σύμφωνα με την Οδηγία (ΕΕ) 2020/2184 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου δόθηκε περιθώριο έως και τον Ιανουάριο του 2026 στα κράτη-μέλη να λάβουν τα αναγκαία μέτρα για να διασφαλιστεί ότι το νερό της ανθρώπινης κατανάλωσης συμμορφώνεται προς τις παραμετρικές τιμές που ορίζονται ως εξής:

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Σύνολο PFAS έως 0,50 μg/L, άθροισμα PFAS έως 0,1 μg/L με αβεβαιότητα μέτρησης % της παραμετρικής τιμής ίση με 50.

Όπου ως σύνολο PFAS ορίζεται το σύνολο των υπερ- και πολυφθοροαλκυλιωμένων ουσιών και ως άθροισμα PFAS ορίζεται το άθροισμα ενός υποσυνόλου PFAS που θεωρούνται πηγή ανησυχίας όσον αφορά το νερό ανθρώπινης κατανάλωσης.

Πιο συγκεκριμένα, πρόκειται για υποσύνολο ουσιών του «Συνόλου PFAS» που περιέχουν ένα υπερφθοροαλκυλιωμένο τμήμα με τρία ή περισσότερα άτομα άνθρακα (δηλαδή — CnF_2n-, n ≥ 3) ή ένα τμήμα υπερφθοροαλκυλαιθέρα με δύο ή περισσότερα άτομα άνθρακα (δηλαδή — $CnF_2nOC_mF_{2m}$–, n και m ≥ 1) (PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFBS, PFPeS, PFHxS, PFOS, PFNS, PFDS, υπερφθοροενδεκανοσουλφονικό οξύ, υπερφθοροδωδεκανοσουλφονικό οξύ και υπερφθοροδεκατριανοσουλφονικό οξύ) [57].

Όσον αφορά τα τρόφιμα, το 2020 η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια Τροφίμων εξέδωσε γνώμη σχετικά με τον κίνδυνο για την υγεία του ανθρώπου που συνδέεται με την παρουσία PFAS στα τρόφιμα (Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1881/2006).

«Η Αρχή κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα PFOS, PFOA, PFNA και PFHxS μπορούν να έχουν αναπτυξιακές επιδράσεις καθώς και δυσμενείς επιδράσεις στη χοληστερόλη του ορού, στο ήπαρ και στο ανοσοποιητικό σύστημα και στο βάρος της γέννησης. Η Αρχή θεώρησε ότι οι επιδράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα είναι οι πλέον κρίσιμες και καθόρισε την ολική ανεκτή εβδομαδιαία πρόσληψη (ΑΕΠ) σε **4,4 ng/kg σωματικού βάρους ανά εβδομάδα** για το άθροισμα των PFOS, PFOA, PFNA και PFHxS, η οποία παρέχει επίσης προστασία από τις άλλες επιδράσεις των εν λόγω ουσιών. Κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η έκθεση τμημάτων του ευρωπαϊκού πληθυσμού στις ουσίες αυτές υπερβαίνει την ΑΕΠ, γεγονός που αποτελεί πηγή ανησυχίας.

Για αυτόν τον λόγο, ο Κανονισμός (ΕΕ) 2022/2388 της Επιτροπής, τροποποιεί τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα PFAS σε ορισμένα νωπά τρόφιμα π.χ. αβγά, ψάρια, κρέατα [57].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

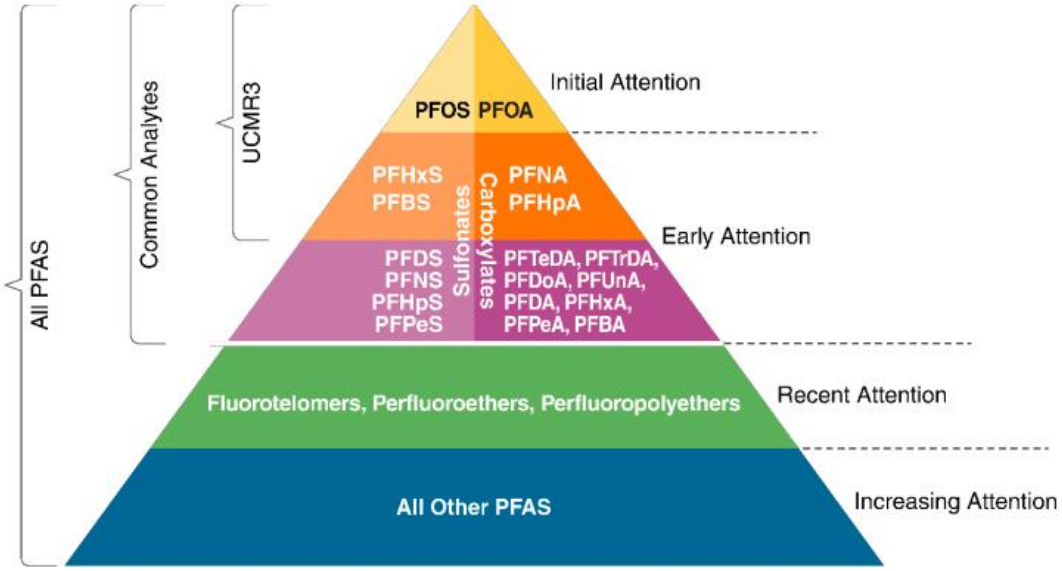
Αντίστοιχα, στις Ηνωμένες Πολιτείες η U.S EPA έχει εφαρμόσει την τελευταία 20ετία διάφορες στρατηγικές με γνώμονα την καλύτερη κατανόηση αλλά και τη μείωση της έκθεσης σε PFAS.

Πρώτη δράση της ως προς τον άξονα αυτόν ήταν η συνεργασία της EPA με την εταιρία 3M, όπου στήριξε την εθελοντική σταδιακή κατάργηση παραγωγής PFOS της εταιρίας, με αποτέλεσμα στη συνέχεια μέσω προγράμματος της EPA οκτώ μεγάλοι κατασκευαστές και μεταποιητές χημικών συμφώνησαν να καταργήσουν σταδιακά τη χρήση του PFOA έως το 2015. Το 2015 η EPA πρότεινε τη σταδιακή κατάργηση των PFAS μακράς αλυσίδας στο πλαίσιο του προγράμματος PFOA 2010/2015. Έπειτα από αρκετές ρυθμίσεις και τροποποιήσεις τον Ιανουάριο του 2023, η EPA πρότεινε έναν κανόνα που θα εμπόδιζε οποιονδήποτε να ξεκινήσει ή να συνεχίσει, χωρίς πλήρη αναθεώρηση και προσδιορισμό κινδύνου EPA, την κατασκευή, επεξεργασία ή χρήση περίπου 300 PFAS που δεν έχουν κατασκευαστεί ή χρησιμοποιηθεί για πολλά χρόνια, γνωστά ως «ανενεργά PFAS».

Ως αναφορά το πόσιμο νερό, για το PFOS και το PFOA αντικατέστησε τον Ιούνιο του 2022 το συμβουλευτικό όριο υγείας (health advisory level-HAL) από τα 70ppt ή 0.07μg/L (ίσχυε από το 2016) σε 0.004 ppt και σε 0.02 ppt αντίστοιχα ως προσωρινά όρια (U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2022c, 2022d).

Όρισε, επίσης, για το PFBS και τις παρόμοιες ενώσεις με αυτό συμβουλευτικό όριο υγείας τα 2,000ppt (U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2022b) και για την «οικογένεια» ενώσεων των GenX τα 10ppt (U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2022a). Τα όρια αυτά δεν έχουν νομικά δεσμευτικό χαρακτήρα παρόλα αυτά έχουν χρησιμοποιηθεί από κάποια κράτη για τον καθορισμό ορίων στα υπόγεια ύδατα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250



Σχήμα 11: Απεικόνιση της κλιμακωτής ευαισθητοποίησης στην εμφάνιση των PFAS στο περιβάλλον [58].

3. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Ο διαχωρισμός των συστατικών ενός μίγματος είναι ο κύριος στόχος των χρωματογραφικών τεχνικών. Διακρίνονται σε διάφορες κατηγορίες με βάση το μέσο που τοποθετείτε η στατική φάση, το είδος των κινητών και των στατικών φάσεων ή τον μηχανισμό αλληλεπίδρασης των ουσιών. Πιο συγκεκριμένα, με βάση το μέσο στο οποίο τοποθετείται η στατική φάση, υπάρχει διαχωρισμός ανάμεσα στη χρωματογραφία στήλης και την επίπεδη χρωματογραφία, ενώ με βάση το είδος της κινητής και στατικής φάσης, διακρίνεται η υγρή χρωματογραφία και η αέρια χρωματογραφία αντίστοιχα. Τέλος, ανάλογα με το μηχανισμό αλληλεπίδρασης που επικρατεί ανάμεσα στις ουσίες προς διαχωρισμό και την στατική φάση, οι χρωματογραφικές τεχνικές διακρίνονται σε χρωματογραφία προσρόφησης, κατανομής, ιονανταλλαγής, μοριακού αποκλεισμού και χημικής συγγένειας.

3.1. Υγρή Χρωματογραφία (Liquid Chromatography, LC)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Η υγρή χρωματογραφία είναι μια τεχνική όπου η κινητή φάση είναι υγρή, ενώ η στερεή φάση μπορεί να είναι είτε στερεή είτε υγρή ακινητοποιημένη σε κάποιο αδρανές υπόστρωμα.

Είναι δυνατή η χρήση μίγματος διαλυτών, καθώς και η βαθμιαία μεταβολή της σύστασης της κινητής φάσης. Επίσης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν αναλυτικές στήλες σε σειρά, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται καλύτερος διαχωρισμός των συστατικών ενός μίγματος. Ο χρόνος ανάλυσης με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας είναι συνήθως της τάξης μερικών λεπτών ενώ παράλληλα η ακρίβεια, η ευαισθησία, η διαχωριστική ικανότητα και η επαναληψιμότητα είναι πολύ καλές. Αποτελεί μία ποιοτική και ποσοτική αναλυτική τεχνική και πλεονεκτεί της αέριας χρωματογραφίας (Gas Chromatography ή GC), γιατί μπορεί να διαχωρίσει και μη πτητικές ή θερμοευαίσθητες χημικές ουσίες. Ο μοναδικός περιορισμός της είναι η δυνατότητα διαλυτοποίησης των αναλυόμενων ουσιών στην κινητή φάση [59].

3.1.1. Βασικές Αρχές Λειτουργίας

Μικρή ποσότητα του μίγματος, του οποίου τα συστατικά χρειάζεται να διαχωρισθούν εισάγεται μέσα στη στήλη μέσω μίας ειδικής βαλβίδας. Στη συνέχεια, καθορισμένος όγκος του δείγματος εγχέεται στην κινητή φάση και μετακινείται στη στήλη υπό τη συνεχή ροή της κινητής φάσης. Η αναλυτική στήλη περιέχει κατάλληλο υλικό πλήρωσης, χαρακτηριστικό για κάθε ομάδα συστατικών που είναι προς διαχωρισμό και εν τέλει προσδιορισμό. Η κινητή φάση συμπαρασύρει την ποσότητα του δείγματος που έχει εισαχθεί και το κατευθύνει μέσα στην αναλυτική στήλη. Οι αναλυόμενες ουσίες κατανέμονται μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης και για το κάθε μόριο την κάθε στιγμή επέρχεται νέος καταμερισμός μεταξύ κινητής και στατικής φάσης, με αποτέλεσμα να μετακινούνται με διαφορετικές ταχύτητες κατά μήκος της στήλης. Η ταχύτητα μετακίνησης των μορίων κάθε συστατικού εξαρτάται από το κλάσμα του χρόνου παραμονής τους στην κινητή φάση ως προς το χρόνο παραμονή τους στην στατική φάση και είναι ανάλογη του συντελεστή κατανομής του συστατικού στις δύο φάσεις. Τα επιμέρους συστατικά, με την προϋπόθεση ότι έχουν διαφορετικούς συντελεστές κατανομής, μετακινούνται

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

με διαφορετική μέση ταχύτητα μέσα στη στήλη, με αποτέλεσμα να διαχωρίζονται σε ζώνες και να εξέρχονται από αυτήν σε διαφορετικά χρονικά σημεία ανάλογα με το μοριακό τους βάρος ή την πολικότητά τους σε σχέση με το εκλουστικό σύστημα. Τα διαχωρισμένα συστατικά και η κινητή φάση κινούνται μέσα από το μικρόκοκκο υλικό πλήρωσης της στήλης χάρη στη λειτουργία μίας αντλίας υψηλής πίεσης. Κάθε ένα από τα συστατικά του δείγματος που εκλούεται, ανιχνεύεται από τον κατάλληλο, συζευγμένο ανιχνευτή που βρίσκεται στην έξοδο της στήλης και εμφανίζεται ως κορυφή (κωδωνοειδής καμπύλη του Gauss) στο σύστημα καταγραφής [60].

3.1.2. Οργανολογία

Ένα σύστημα υγρής χρωματογραφίας περιλαμβάνει:

1. **Περιέκτες αποθήκευσης διαλυτών**

Οι διαλύτες που θα αποτελέσουν την κινητή φάση βρίσκονται αποθηκευμένοι σε ειδικές φιάλες.

Απαερωτής κενού: Ο απαερωτής εξασφαλίζει την απαέρωση της κινητής φάσης, ώστε να είναι εφικτός ο έλεγχος της πίεσης στη χρωματογραφική στήλη.

2. **Αντλία (pump)**

Η αντλία εξασφαλίζει τη συνεχή άντληση και προώθηση της κινητής φάσης διαμέσου του συνόλου του συστήματος, από τους περιέκτες των διαλυτών μέχρι το δοχείο συλλογής των αποβλήτων του συστήματος, υπό ρυθμιζόμενη πίεση και ροή.

3. **Μονάδα εισαγωγής του δείγματος (injection system/ injector valve)**

Περιλαμβάνει βρόγχο σταθερού όγκου ή αυτόματο σύστημα εισαγωγής, μεταβλητού όγκου έγχυσης. Βρίσκεται πριν τη χρωματογραφική στήλη και επιτρέπει την εισαγωγή του δείγματος στη ροή της κινητής φάσης.

4. **Χρωματογραφική στήλη (analytical column)**

Στη αναλυτική στήλη επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός του μίγματος στα συστατικά του. Εφόσον ο διαχωρισμός καθορίζεται και από τη θερμοκρασία, η στήλη βρίσκεται σε θερμοστατούμενο κλίβανο (column oven).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Οι στήλες της υγρής χρωματογραφίας ανάλογα με τον ρόλο τους διακρίνονται σε:

- Αναλυτικές στήλες: ο εξωτερικός κύλινδρος της στήλης είναι κατασκευασμένος από μέταλλο, ανοξείδωτο ατσάλι, γυαλί ή πολυμερές. Στο εσωτερικού του κυλίνδρου υπάρχει υλικό πλήρωσης, με κόκκους σφαιρικούς ή ακανόνιστου σχήματος.

  Η αποτελεσματικότητα της στήλης καθορίζεται από παράγοντες όπως, η διάμετρος και το μήκος της στήλης, το υλικό πλήρωσης με τις φυσικοχημικές ιδιότητες του και τη διάμετρο των πόρων του.

- Προστήλες: τοποθετούνται πριν την αναλυτική στήλη, την οποία προστατεύει από αιωρούμενα σωματίδια «βρώμικων» ή ακατέργαστων δειγμάτων. Συνήθως, είναι μικρότερου μήκος από την αναλυτική στήλη ώστε να αποφευχθεί η διεύρυνση των χρωματογραφικών κορυφών [61], [62].

- “Delay Column” βρίσκεται στη διαδρομή ροής μεταξύ του μείκτη του διαλύτη και του εγχυτήρα του δείγματος. Κατά τη διάρκεια της ανάλυσης, η στήλη αυτή συγκρατεί τα PFAS που ενδέχεται να υπάρχουν εντός της κινητής φάσης και τα διαχωρίζει από τα αντίστοιχα του αναλύτη [63].

5. Ανιχνευτής

Οι συχνότεροι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται στην υγρή χρωματογραφία είναι:

- ανιχνευτές ορατού-υπεριώδους (UV/Vis Detector),
- ανιχνευτές συστοιχίας φωτοδιόδων (Diode Array Detector ή DAD),
- αγωγιμομετρικοί ανιχνευτές (Conductivity Detector),
- ανιχνευτές δείκτη διάθλασης (Refractive Index Detector)
- φασματογράφοι μάζας MS (Mass Spectroscopy Detector ή MS Detector)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

• ανιχνευτής Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (Ανιχνευτής NMR) (Nuclear Magnetic Resonance Detector, NMR Detector),

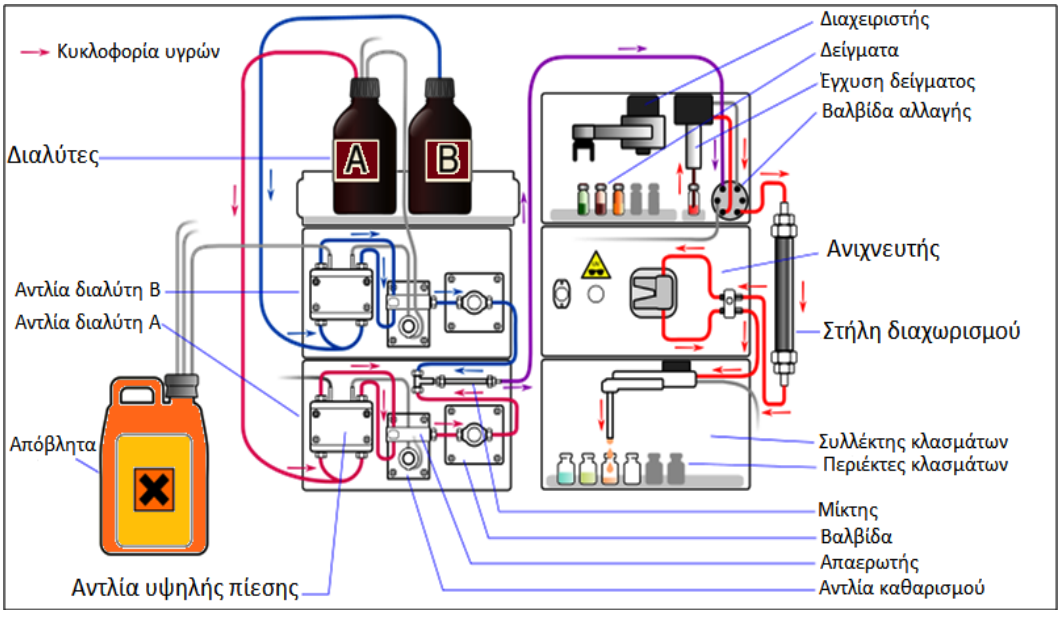
• ηλεκτροχημικοί ανιχνευτές (Electrochemical Detector),

• φθορισμομετρικοί ανιχνευτές (Fluorescence Detector).

Σύστημα συλλογής και καταγραφής των αποτελεσμάτων

Το μετρούμενο σήμα που καταγράφεται συνεχώς κατά τη διάρκεια μιας ανάλυσης στέλνεται στη συνέχεια σε κάποιον υπολογιστή που παράγει το χρωματογράφημα της ανάλυσης μέσω ειδικού λογισμικού.

Η ταυτοποίηση των ουσιών γίνεται με βάση το χρόνο συγκράτησης, ο οποίος είναι σταθερός για ορισμένο χρωματογραφικό σύστημα (αναλυτική στήλη, εκλουστικό σύστημα, ταχύτητας ροής, πίεση). Ο ποσοτικός προσδιορισμός γίνεται με βάση την καμπύλη αναφοράς, εφαρμόζοντας συνήθως την τεχνική του εσωτερικού προτύπου [61], [62].

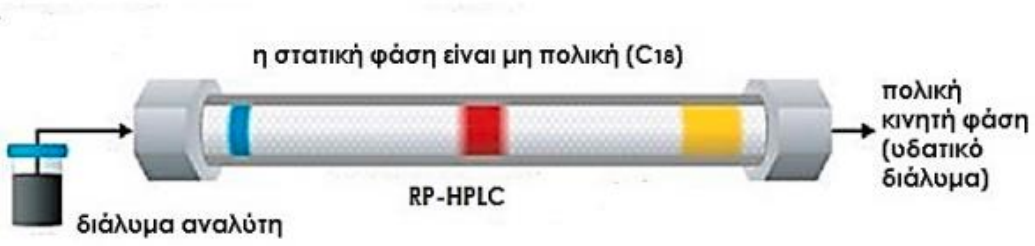


Σχήμα 12: Διάταξη υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης [64].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

3.1.3. Υγρή Χρωματογραφία Αντίστροφης φάσης

Η χρωματογραφία αντίστροφης φάσης είναι το αντίστροφο της κανονικής, δηλαδή χρησιμοποιεί πολική κινητή φάση και μη πολική, υδρόφοβη, στατική φάση. Η κινητή φάση αποτελείται από ένα υδατικό διάλυμα που περιέχει μείγματα οργανικών διαλυτών (μεθανόλη, ακετονιτρίλιο). Στη στατική φάση, που αποτελείται από διοξείδιο του πυριτίου, προσδένονται διάφορες υδρόφοβες, οργανικές ομάδες (διόλες, φαινύλιο, αλκύλια, κυανομάδες). Με αυτό τον τρόπο η στατική φάση καθίσταται μη πολική. Όσο λιγότερο πολικά είναι τα μόρια μια ουσίας, που διαχωρίζεται, τόσο πιο έντονα θα αλληλοεπιδρούν με τη στατική φάση και προκειμένου να αποδεσμευτούν από αυτήν η κινητή φάση θα πρέπει να γίνει λιγότερο πολική. Αντιθέτως, αν τα μόρια μιας διαχωριζόμενης ουσίας είναι πολικά, διαλύονται στην κινητή φάση και εκλούονται πρώτα [61], [64].



Σχήμα 13: Απεικόνιση υγρής χρωματογραφίας αντίστροφης φάσης [65].

3.2. Φασματομετρία Μάζας (Mass Spectrometry, MS)

3.2.1. Βασικές Αρχές Λειτουργίας

Η φασματομετρία μάζας είναι μία τεχνική προσδιορισμού δομής και ποσοτικού προσδιορισμού χημικών ενώσεων και στοιχείων, οι οποίες βασίζονται στον ιοντισμό ατόμων ή μορίων ή την παραγωγή ιοντικών θραυσμάτων μορίων και την καταγραφή της σχετικής έντασης του ιοντικού ρεύματος (σήματος) που αντιστοιχεί σε κάθε λόγο μάζας προς φορτίο (m/z) (Θωμαΐδης, n.d.).

Η αρχή της τεχνικής οφείλεται στην παρατήρηση του Wien (1898) ότι τα θετικά ιόντα αποκλίνουν της φοράς τους κατά την κίνηση τους σε ηλεκτρικά ή μαγνητικά πεδία.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Αποτελεί ίσως την τεχνική με τις περισσότερες εφαρμογές, σε σχέση με όλες τις άλλες αναλυτικές τεχνικές.

Το γεγονός αυτό οφείλεται στην πληθώρα πληροφοριών που παρέχονται από την τεχνική αυτή, όπως:

- Στοιχειακή σύσταση του δείγματος.
- Ταυτοποίηση ουσιών – ακριβές μοριακό βάρος
- Δομή ανόργανων, οργανικών, οργανομεταλλικών και βιολογικών μορίων.
- Ποιοτική και ποσοτική σύσταση μιγμάτων, ακόμη και πολύπλοκων.
- Δομή και σύσταση στερεών επιφανειών.
- Αναλογία ισοτόπων ατόμων σε δείγματα.

Η δυναμική της φασματομετρίας μαζών στη χημική ανάλυση αποδίδεται σε τρεις σημαντικές ιδιότητες:

- μεγάλη εκλεκτικότητα που επιτυγχάνεται με την ακριβή μέτρηση των σχετικών μοριακών μαζών.
- Πολύ υψηλή ευαισθησία που φτάνει έως τα 10^{-18} mol.
- Δυνατότητα δράσης ως ολικός ανιχνευτής (universal detector) και να εφαρμοσθεί για την ανάλυση οποιουδήποτε δείγματος ανεξαρτήτως της φύσης του (Θεοδωρίδης, n.d.)

Για όλους τους παραπάνω λόγους αποτελεί από τις πλέον διαδεδομένες τεχνικές ανάλυσης και εφαρμόζεται, ευρέως, σε πολλούς τομείς τεχνολογίας και έρευνας, όπως στη βιοτεχνολογία, φαρμακοβιομηχανία, στην κλινική πράξη, περιβάλλον, τρόφιμα, τοξικολογία και ιατροδικαστική έρευνα.

Επιπλέον, βρίσκει εφαρμογή σε όλες τις κατηγορίες δειγμάτων, πτητικά-μη πτητικά, πολικά-μη πολικά, υγρά-στερεά-αέρια, παρουσιάζει μοριακή εξειδίκευση και μεγάλη ευαισθησία.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

3.2.2. Οργανολογία

Ένας τυπικός φασματογράφος μαζών αποτελείται από τα εξής επιμέρους τμήματα:

1. **Είσοδος δείγματος**

Ο σκοπός αυτού του τμήματος είναι η εισαγωγή μικρών ποσοτήτων (1 μmole ή και λιγότερο) στο όργανο. Το δείγμα εισάγεται με συνθήκες σταθερής ροής και σε αέρια πάντα κατάσταση (θέρμανση σε συνθήκες υψηλού κενού). Οι ευαίσθητες ενώσεις, τα στερεά και τα μη πτητικά υγρά εισάγονται κατ' ευθείαν στο θάλαμο ιονισμού, που βρίσκεται σε υψηλό κενό.

2. **Πηγή ιοντισμού**

Οι πηγές ιοντισμού αποτελούν το αρχικό στάδιο σε μία μέτρηση με φασματομετρία μαζών και σκοπός τους είναι ο σχηματισμός των ιόντων του αέριου αναλυτή, διαδικασία καθοριστικής σημασίας για τους στόχους της μέτρησης. Για τη μετατροπή σε ιόντα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ηλεκτρικό πεδίο ή υψηλή θερμοκρασία. Τα ιόντα επιταχύνονται και εισέρχονται στον αναλυτή μάζας.

3. **Αναλυτής μάζας**

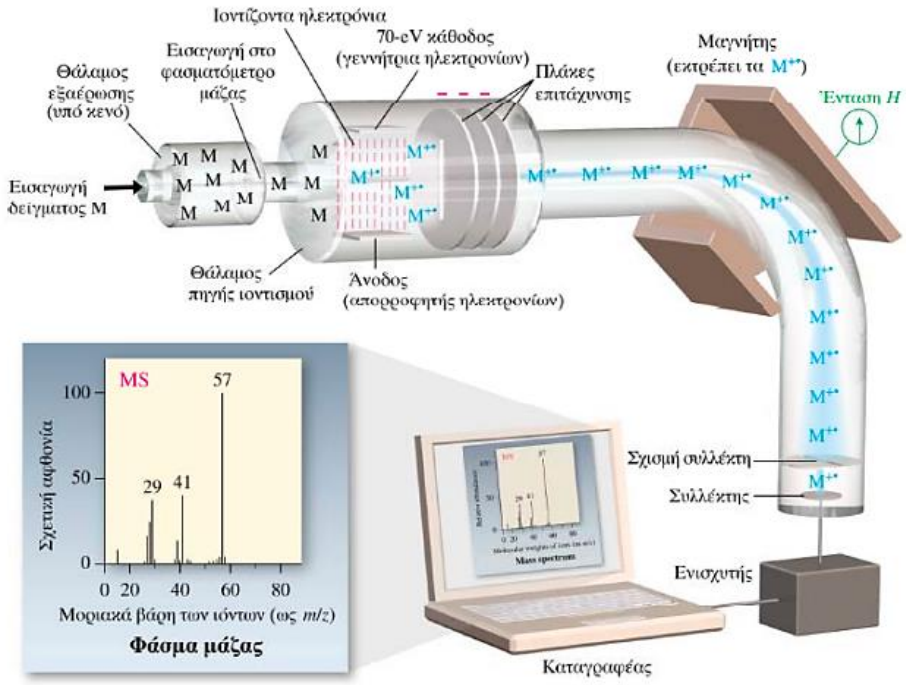
Εδώ λαμβάνει χώρα διαχωρισμός των ιόντων ανάλογα με το m/z που φέρουν. Χρησιμοποιούνται αρκετοί αναλυτές μάζας με λειτουργία που στηρίζεται σε διαφορετικές αρχές.

4. **Ανιχνευτής**

Σκοπός της διάταξης αυτής είναι να συλλάβει τα διαχωριζόμενα ιόντα και να τα μετατρέψει σε ηλεκτρικό σήμα. Το σήμα αυτό επεξεργάζεται στη συνέχεια ειδικό λογισμικό σε ηλεκτρονικό υπολογιστή (καταγραφέας).

Ολόκληρος ο φασματογράφος (πέραν του συστήματος επεξεργασίας δεδομένων) βρίσκεται υπό κενό (πιέσεις 10^{-5} – 10^{-8} Torr) που δημιουργείται από εσωτερικές και εξωτερικές αντλίες κενού [1], [18], [66].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250



Σχήμα 14: οργανολογία της φασματομετρία μάζας [18].

Εξέχουσα σημασία έχει και η σύζευξη της χρωματογραφίας με τη φασματομετρία μάζας, όπου αποτελεί ένα από τα μεγαλύτερα επιτεύγματα της σύγχρονης επιστήμης. Όσον αφορά τη σύζευξη με την αέρια χρωματογραφία γίνεται άμεσα. Αντίθετα, η σύζευξη για την Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC) την Τριχοειδή Ηλεκτροφόρηση και άλλες υγρές τεχνικές διαχωρισμού, απαιτείται ειδική διάταξη σύζευξης (interface).

Πηγές Ιονισμού

Ένας συχνός τρόπος διαχωρισμού των τεχνικών ιονισμού είναι σε «μαλακές» και «σκληρές» τεχνικές. Στις σκληρές τεχνικές ιονισμού χρησιμοποιείται υψηλή ενέργεια που προκαλεί διάσπασή της σε θυγατρικά ιόντα (θραύση), όπως στην Πρόσκρουση Ηλεκτρονίων (Electron Impact, EI). Μαλακές καλούνται οι τεχνικές που επιτυγχάνουν τον ιονισμό σε ηπιότερες συνθήκες που δεν προκαλούν θραύση, όπως ο ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό (Electron Spray Ionization, ESI), ο ιονισμός εκφρόφησης λέιζερ υποβοηθούμενος από υλικό μήτρας (Matrix Assisted Laser

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Desorption /ionization , MALDI) ή ο ιονισμός σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης (Atmospheric Pressure chemical ionization, APCI).

Μία άλλη κατηγοριοποίηση θα μπορούσε να επιτευχθεί με βάση τον τρόπο λειτουργίας της πηγής, όπου υπάρχει η διάκριση ανάμεσα σε πηγή αέριας φάσης, όπου σε αυτήν την περίπτωση το δείγμα πρώτα εξαερώνεται και μετά ιοντίζεται και σε πηγή εκρόφησης, όπου το δείγμα, το οποίο είναι σε υγρή ή στερεή κατάσταση, μετατρέπεται σε αεριώδη ιόντα, έχοντας το πλεονέκτημα ότι εφαρμόζεται και σε μη πτητικά ή θερμικώς ασταθή δείγματα [1], [67].

Πίνακας 3-1: Κύριες τεχνικές ιονισμού [1], [18], [67]

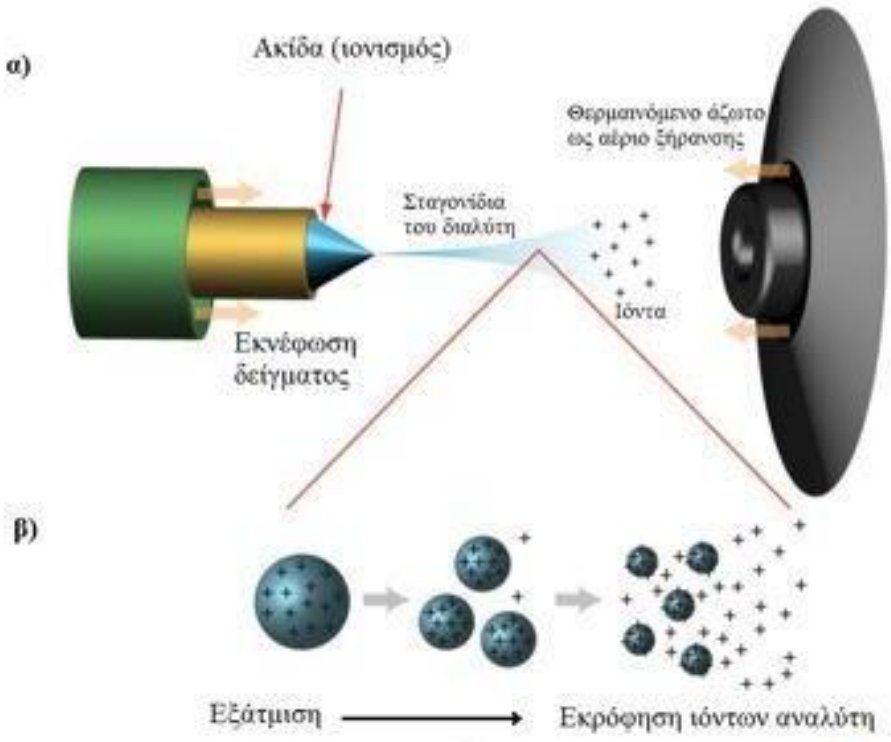
Τεχνική Ιονισμού	**Κύρια Ιόντα**	**Τάξεις Ενώσεων**	**Κατηγορία πηγής**
Πρόσκρουση Ηλεκτρονίων (EI)	M^+ Θυγατρικά ιόντα	Μη πολικές, κάποιες πολικές <1000 dalton	αέριας φάσης «σκληρή»
Χημικός Ιονισμός (CI)	$[M+H]^+$ M^- , $[M-H]^-$, M^-	Μη πολικές, κάποιες πολικές <1000 dalton	αέριας φάσης
Βομβαρδισμός με άτομα (FAB)	$[M+H]^+$ $[M-H]^-$	Πολικές οργανικές, πρωτεΐνες, οργανομεταλλικές < 10,000 dalton	εκρόφησης
Ιοντισμός με θερμοψεκασμό (TSI)	$[M+H]^+$ $[M+NH4]^+$	Πολικές, κάποιες μη πολικές οργανικές <1000 dalton	εκρόφησης «μαλακή»
Ιοντισμός εκφρόφησης λέιζερ υποβοηθούμενος από υλικό μήτρας (MALDI)	$[M+H]^+$ $[M-H]^-$	Πολικές, κάποιες μη πολικές, βιοπολυμερή, συνθετικά πολυμερή $<10^6$ dalton	εκρόφησης «μαλακή»
Ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό (ESI)	$[M+H]^+$ $[M+NH4]^+$ $[M-H]^-$	Πολικές, κάποιες μη πολικές οργανικές, πρωτεΐνες <200,000 dalton	εκρόφησης «μαλακή»
Ιοντισμός σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης (APCI)	[M+H]+ [M-H]-	Μη πολικές, κάποιες πολικές <1000 dalton	αέριας φάσης «μαλακή»

Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιείται ως πηγή ιοντισμού η ESI, η οποία αποτελεί την κυριότερη μέθοδο σύζευξης υγρής χρωματογραφίας με φασματομετρία μάζας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό (Electron Spray Ionization, ESI)

Η είσοδος του διαλύματος στο σύστημα γίνεται εν ροή μέσα από τριχοειδή σωλήνα. Παράλληλα με τον τριχοειδή βρίσκεται εξωτερικός σωλήνας μέσα από τον οποίο διαβιβάζεται αέριο (ρεύμα θερμού αζώτου) που σκοπό έχει τη δημιουργία εκνεφώματος στην άκρη του τριχοειδούς. Ο τριχοειδής είναι γειωμένος ενώ στο απέναντι ηλεκτρόδιο (counter electrode) εφαρμόζεται δυναμικό της τάξης των 3-5 kV. Το υγρό διασπείρεται σε νέφος από μικρές φορτισμένες σταγόνες και ο διαλύτης εξατμίζεται ταχύτατα ιονίζοντας τις αναλυόμενες ενώσεις. Αναλυτικότερα, οι σταγόνες αυτές συρρικνώνονται και διασπώνται επαναλαμβανόμενα, λόγω της εξάτμισης του διαλύτη, μέχρι το σχηματισμό ιόντων αέριας φάσης. Όσο περισσότερο μειώνεται το μέγεθος της σταγόνας, τόσο περισσότερο αυξάνεται η πυκνότητα του ηλεκτρικού πεδίου στην επιφάνειά της. Ως αποτέλεσμα η απώθηση μεταξύ των φορτίων σε τόσο μικρή επιφάνεια γίνεται τόσο ισχυρή που ξεπερνά την επιφανειακή τάση. Ως εκ τούτου τα ιόντα αρχίζουν σιγά σιγά να εγκαταλείπουν την σταγόνα μέσω του «κώνου του Taylor». Εν τέλει τα ιόντα κατευθύνονται ηλεκτροστατικά στον αναλυτή μάζας.



Σχήμα 15: Απεικόνιση του ιοντισμού με ηλεκτροψεκασμό [68].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Ο ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό καλύπτει το μεγαλύτερο πεδίο εφαρμογής για την ανάλυση βιομορίων καθώς επιτυγχάνει τον ιονισμό πολλών κατηγοριών π.χ. πρωτεΐνες, νουκλεοτίδια. κλπ. Κατά τον ιονισμό της σε electrospray μία πρωτεΐνη, δεν διασπάται, αλλά επιτυγχάνεται η φόρτιση πολλαπλών μορίων έχοντας ως αποτέλεσμα τη μείωση του λόγου m/z.

Με την τεχνική ιοντισμού με ηλεκτροψεκασμό είναι δυνατόν να ανιχνευτούν και να προσδιοριστούν μεγαλομόρια μοριακού βάρους έως 70.000) μέσω οργάνων με μικρό σχετικά εύρος μαζών. Αυτό επιτυγχάνεται λόγω της δημιουργίας πολλαπλών φορτισμένων μορίων της ως προς ανάλυση ουσίας κατά την εφαρμογή της τεχνικής.

Επιπλέον, με την ESI καθίσταται δυνατή η μελέτη θερμικά ασταθών μορίων, σε αντίθεση με την EI, εφόσον οι θερμοκρασίες ιοντισμού που εφαρμόζονται είναι σχετικά χαμηλές.

Εκτός των θερμικά ασταθών μορίων, η τεχνική εφαρμόζεται με επιτυχία σε ποικιλία μορίων (μετρίως πολικών και πολικών) και έχει καλή ευαισθησία [18], [69].

Αναλυτές Μάζας

Η βασική λειτουργία ενός αναλυτή μάζας είναι να διαχωρίσει τα ιόντα, που παράγονται στην πηγή ιόντων, ανάλογα με τις διαφορετικές τιμές των λόγων m/ z. Αυτό συμβαίνει καθώς οι αναλυτές δημιουργούν ένα μαγνητικό πεδίο μέσα στο οποίο κινούνται τα ιόντα διαγράφοντας μια τροχιά και διαχωρίζονται ανάλογα με την ορμή των ιόντων η οποία εξαρτάται και από το λόγο m/z του κάθε ιόντος. Συγκεκριμένα ιόντα που έχουν τον ίδιο λόγο m/z ακολουθούν τη προβλεπόμενη τροχιά και εστιάζονται στη σχισμή που οδηγεί στον ανιχνευτή. Ο διαχωρισμός αυτός αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση, έτσι ώστε το μετρούμενο ιοντικό ρεύμα στον ανιχνευτή ιόντων, που ακολουθεί των αναλυτή μαζών, να αντιστοιχεί σε ιόντα με συγκεκριμένο λόγο m/z .

Το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό σε έναν αναλυτή μαζών είναι η διαχωριστική του ικανότητα (Resolution, R).

Η διαχωριστική (ή διακριτική) ικανότητα, R , ορίζεται από τη σχέση:

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

$$R = \frac{M}{\Delta M},$$

όπου Μ: η μάζα της πρώτης κορυφής, ΔΜ: διαφορά μαζών δύο διαδοχικών κορυφών.

Δύο κορυφές (m/z) ίσης έντασης θεωρείται ότι διαχωρίζονται πλήρως όταν το ύψος της βασικής γραμμής (επικάλυψη) μεταξύ τους είναι μικρότερο του 10% του ύψους τους.

Η διαχωριστική ικανότητα ενός φασματογράφου μαζών καθορίζει τη χρήση του και κατηγοριοποιεί τα όργανα σε όργανα χαμηλής και υψηλής διαχωριστικής ικανότητας.

Οι συνηθέστεροι τύποι αναλυτών μαζών είναι:

1. Αναλυτής απλής εστίασης (single magnetic focusing)
2. Αναλυτής διπλής εστίασης (double electrostatic magnetic focusing)
3. Παγίδα ιόντων (A trap)
4. Αναλυτής Χρόνου Πτήσεως (Time of Flight, TOF)
5. Υβριδικός αναλυτής Orbitrap
6. Τετραπολικός αναλυτής (Quadrupole)
7. Αναλυτής κυκλοτρονιακού συντονισμού ιόντων με μετασχηματισμό Fourier (Fourier-transform Ion Cyclotron Resonance, FTICR)

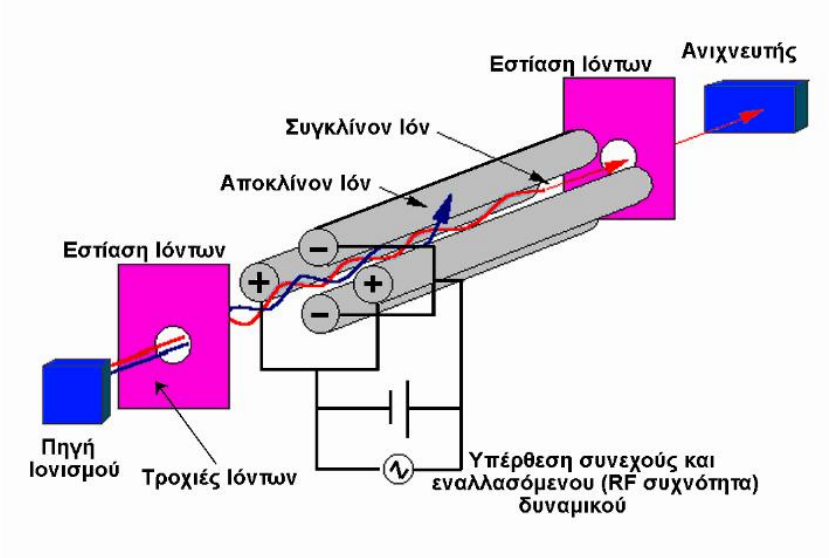
Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιείται ως αναλυτής μάζας τετραπολικός αναλυτής, ο οποίος έχει ευρεία χρήση καθώς παρουσιάζει μία σειρά από πλεονεκτήματα. Πιο συγκεκριμένα έχει χαμηλή σχετικά τιμή, συμπαγή κατασκευή, μεγαλύτερες ανοχές, ταχύτερη σάρωση (< 100 ms) και τέλος αμεσότερη συμβατότητα με χρωματογραφικές τεχνικές.

Τετραπολικός Αναλυτής (Quadrupole MS)

Ο διαχωρισμός μαζών επιτυγχάνεται με την υπέρθεση ενός εναλλασομένου ηλεκτρικού πεδίου έχοντας συχνότητα στην περιοχή των ραδιοκυμάτων (RF, radiofrequency) σε ένα συνεχές (DC) ηλεκτρικό πεδίο. Το DC-RF πεδίο

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

εφαρμόζεται σε τέσσερις παράλληλες, μεταλλικές, κυλινδρικές ράβδους (πόλοι), οι οποίες βρίσκονται φορτισμένες σε απέναντι ζεύγη στο ίδιο συνεχές ηλεκτρικό ρεύμα. Στο σύστημα εφαρμόζεται με διαφορά φάσης 180 μοίρες εναλλασσόμενο ρεύμα υψηλής συχνότητας (ραδιοσυχνότητα). Τα ιόντα εισέρχονται στο τετράπολο μετά από επιτάχυνση σε δυναμικό 5-15 V, όπως φαίνεται στο Σχήμα 14.



Σχήμα 16: Τετραπολικός Αναλυτής [70].

Σε ένα συγκεκριμένο λόγο δυναμικών DC:RF, μόνο ένα ιόν συγκεριμένου m/z έχει σταθερή τροχιά (ελικοειδή πορεία) και μπορεί ανάλογα με τα φίλτρα να περάσει και να φτάσει στον ανιχνευτή. Όλα τα υπόλοιπα ιόντα «φιλτράρονται» εκτός ιοντικής δέσμης, εξουδετερώνονται και απομακρύνονται. Για το λόγο αυτό ο τετραπολικός αναλυτής αποκαλείται συχνά και φίλτρο μαζών.

Το τριπλό τετράπολο είναι ο συνδυασμός τριών τετραπόλων. Όταν το τριπλό τετράπολο λειτουργεί ως απλός αναλυτής, ρυθμίζεται έτσι ώστε δύο τετράπολα να συνεισφέρουν μόνο στην εστίαση της δέσμης των ιόντων και ο διαχωρισμός να γίνεται στο τρίτο τετράπολο. Η μεγάλη χρησιμότητα του συστήματος έγκειται στη δυνατότητα της διαδοχικής φασματομετρίας μαζών MS/MS. Αρχικά επιλέγεται στο πρώτο τετράπολο (MS1) ένα μόνο ιόν. Στη συνέχεια, το μητρικό ιόν οδηγείται στο δεύτερο τετράπολο (Q2), όπου συγκρούεται με περίσσεια ενός αδρανούς αερίου (αργό ή ήλιο) και διασπάται παράγοντας θυγατρικά ιόντα. Το τετράπολο Q2 αποτελεί την κυψελίδα συγκρούσεων (collision cell) και λειτουργεί ως χώρος

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

θραυσματοποίησης του μητρικού ιόντος. Στο τρίτο τετράπολο (MS2), πραγματοποιείται ο διαχωρισμός και η μέτρηση των θυγατρικών ιόντων.

Τα τετράπολα έχουν σταθερό FWHM (Full Width at Half Maximum) σε όλο το εύρος μαζών (συνήθως 0.4 – 1.4), για αυτόν τον λόγο χαρακτηρίζονται ως όργανα χαμηλής διακριτικής ικανότητας (Low Resolution MS, LRMS).

Η παρακολούθηση των ιόντων μπορεί να γίνει διάφορους τύπους σάρωσης: την πλήρη σάρωση (full scan), την παρακολούθηση επιλεγμένου ιόντος (Single Ion Monitoring, SIM), την παρακολούθηση επιλεγμένης αντίδρασης (Multiple Reaction Monitoring, MRM), τη σάρωση θυγατρικών ιόντων (Product Ion Scanning) και τη σάρωση μητρικού ιόντος (Parent Ion Scanning).

Ανιχνευτές Ιόντων

Οι ανιχνευτές ιόντων επιτρέπουν στον φασματογράφο μάζας να επάγει σήμα από τα προκύπτοντα ιόντα στη μονάδα του χρόνου, επάγοντας δευτερεύοντα ηλεκτρόνια, ή επάγοντας ηλεκτρικό ρεύμα που προκύπτει από κινούμενο φορτίο.

Οι τύποι ανιχνευτών ιόντων που χρησιμοποιούνται είναι οι ακόλουθοι:

- Φαραντάϊκό Κύπελλο (Faraday Cup)
- Ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστής (Electron Multiplier,EM)
- Ανιχνευτής Daly

3.2.3. Φασματομετρία μάζας σε σειρά

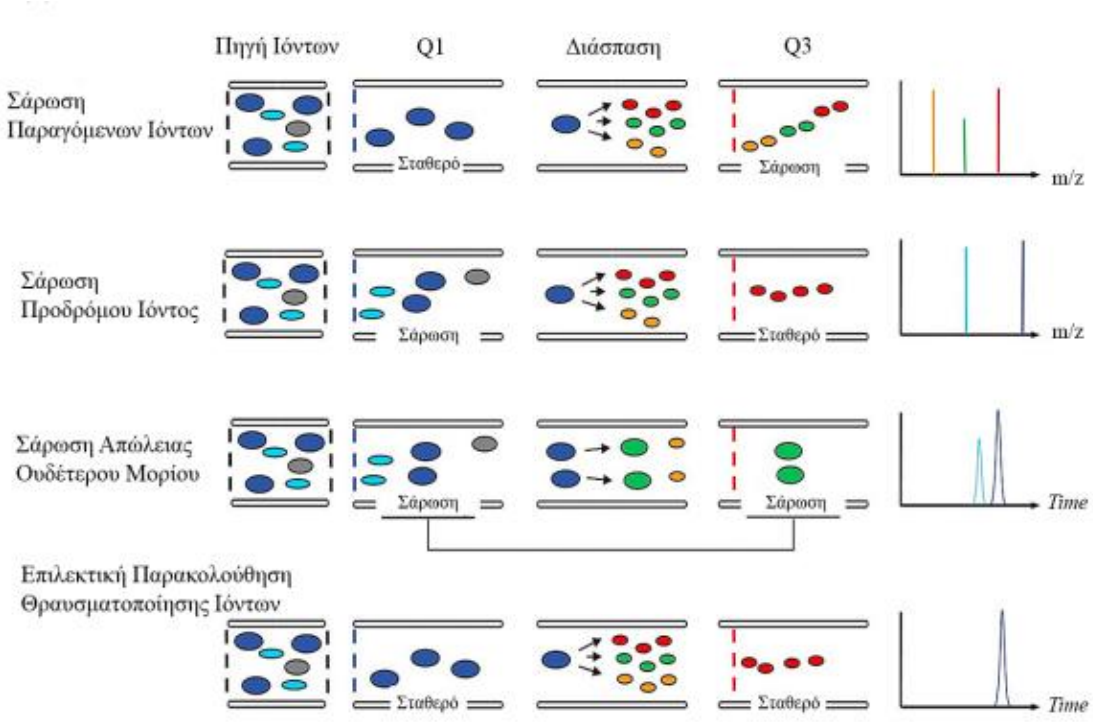
Η φασματομετρία μαζών σε σειρά (Tandem Mass Spectrometry, MS/MS) περιλαμβάνει δύο ή περισσότερα επίπεδα φασματομετρικής ανάλυσης. Για πειράματα φασματομετρίας μαζών σε σειρά, απαιτούνται τουλάχιστον δύο αναλυτές μαζών. Η πιο κοινή διαμόρφωση είναι το τριπλό τετράπολο (Q-Q-Q), το οποίο χρησιμοποιεί δύο τετράπολα (Q1, Q3) ως αναλυτές MS. Το ενδιάμεσο τετράπολο (Q2) χρησιμοποιείται ως χώρος θραύσης των ιονισμένων μορίων και πληρώνεται με αέριο σύγκρουσης (collision gas) που είναι, συνήθως, αδρανές αέριο όπως το αργό ή το ήλιο. Αναλυτικότερα, ο πρώτος αναλυτής απομονώνει τα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

μοριακά ιόντα των διαφόρων συστατικών ενός μίγματος, ο δεύτερος αναλυτής προκαλεί την θραύση με αποτέλεσμα τη δημιουργία φασμάτων μαζών, ένα για κάθε μοριακό ιόν. Τέλος, στον τρίτο αναλυτή πραγματοποιείται η ανίχνευση των ιόντων.

Στη φασματομετρία MS/MS υπάρχει η δυνατότητα εφαρμογής διάφορων πειραμάτων σάρωσης:

- Σάρωση Παραγόμενων Ιόντων (Product Ion Scan)
- Σάρωση Πρόδρομου Ιόντος (Precursor Ion Scan)
- Σάρωση για την Ανίχνευση Απώλειας Ουδέτερου Μορίου (Constant Neutral Loss Scan, CNL)
- Επιλεκτική Παρακολούθηση Θραυσματοποίησης Ιόντων



Σχήμα 17: α) Πείραμα Σάρωσης Παραγομένων Ιόντων, β) Πείραμα σάρωσης Πρόδρομου γ) Πείραμα για Ανίχνευση Απώλειας Ουδέτερου Μορίου δ) Πείραμα Επιλεκτικής Παρακολούθησης Αντιδράσεων Θραυσματοποίησης Ιόντων [69]

Οι κύριες εφαρμογές της LC-MS/MS είναι η ταυτοποίηση και μελέτη της δομής οργανικών ενώσεων, ο έλεγχος ποιότητας, η ποσοτική ανάλυση καθώς και η ισοτοπική επισήμανση με σταθερά ισότοπα. Αναλυτικότερα εμφανίζονται τουλάχιστον δύο θραύσματα της προσδιορισθείσας ουσίας στο χρωματογράφημα,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

γεγονός που μας δίνει την δυνατότητα να υπολογίσουμε τον λόγο της έντασης των δύο θραυσμάτων ο οποίος είναι μοναδικός για την κάθε χημική ένωση. Ως εκ τούτου, καθίσταται δυνατός ο προσδιορισμός του αναλύτη με μεγάλη εξειδίκευση, καθώς πλέον θεωρείται αδύνατος ο συνυπολογισμός προσμίξεων κατά την ποσοτικοποίηση του αναλύτη.

Λαμβάνοντας υπόψη την επικινδυνότητα της έκθεσης των ανθρώπων σε PFAS, σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανάπτυξη εξειδικευμένης αναλυτικής μεθόδου προσδιορισμού των ενώσεων αυτών στα βιολογικά υγρά.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός τους στα βιολογικά υγρά βασίζεται στην υγρή χρωματογραφία και στην χρήση φασματογράφου μάζας, μετά από κατάλληλη επεξεργασία του δείγματος.

Ακολουθεί ποσοτικός προσδιορισμός των ενώσεων με LC-MS/MS όπου ως μέθοδος ιονισμού εφαρμόζεται ο αρνητικός ιονισμός με ηλεκτροψεκασμό (ElectroSpray Ionization, ESI) και ως αναλυτής μάζας χρησιμοποιείται τριπλό τετράπολο (triple quadrupole), που χαρακτηρίζεται από υψηλή ευαισθησία και εξειδίκευση [18], [62], [66], [67], [69].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

4. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ-ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΑΣ (LC-MS)

Η διαδικασία ανάπτυξης μίας νέας αναλυτικής μεθόδου ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης δεν είναι απλή και περιλαμβάνει την εξέταση πολλών παραμέτρων. Οι μέθοδοι ανάλυσης αναπτύσσονται, βελτιώνονται, επικυρώνονται, προκειμένου τελικά να εφαρμοσθούν.

Αρχικά, ο χρωματογραφικός διαχωρισμός που θα εφαρμοστεί εξαρτάται κυρίως από τη φύση των δειγμάτων. Η γνώση της χρωματογραφικής διαδικασίας είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη μίας μεθόδου με την τεχνική LC-MS/MS. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ο διαχωρισμός απαιτείται αρκετή πειραματική μελέτη. Η ανάπτυξη μίας μεθόδου ανάλυσης συνήθως βασίζεται σε προηγούμενη τεχνική ή υπάρχουσα βιβλιογραφία. Όσον αφορά τη φασματομετρία μάζας, όταν οι συγκεντρώσεις των προσδιοριζόμενων ουσιών είναι εκ των πραγμάτων μικρή στα προς ανάλυση δείγματα, χρειάζεται η βελτιστοποίηση όλων των παραμέτρων για να επιτευχθεί ακρίβεια και ευαισθησία.

Στάδια ανάπτυξης μεθόδου υγρής χρωματογραφίας – φασματομετρία μάζας

- Συλλογή πληροφοριών από τη βιβλιογραφία για τις ιδιότητες των μορίων.
- Σάρωση και βελτιστοποίηση των παραμέτρων της φασματογραφίας μάζας.
- Επιλογή χρωματογραφικής μεθόδου και βελτιστοποίηση συνθηκών (με βάση την διαλυτότητα και το χρόνο συγκράτησης του προσδιοριζόμενου συστατικού).
- Επιλογή μεθόδου εκχύλισης και καθαρισμού.
- Επιλογή κατάλληλου εσωτερικού προτύπου (IS) [59].

4.1. Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (Solid Phase Extraction - SPE)

Η εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction, SPE) είναι μια σύγχρονη και αποδοτική τεχνική προκατεργασίας που χρησιμοποιείται για το χειρισμό υδατικών δειγμάτων για την εκχύλιση ημι-πτητικών και μη πτητικών συστατικών και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

χαρακτηρίζεται από την απλότητά της, το χαμηλό της κόστος και τη δυνατότητά της να αυτοματοποιηθεί. Απαρτίζεται από μία μικροστήλη (μικροφυσσίγιο) μέσα στην οποία βρίσκεται πακτωμένο προσροφητικό υλικό μεταξύ δύο φίλτρων στο άνω και κάτω μέρος της.

Το προσροφητικό υλικό αποτελεί το σημαντικότερο κριτήριο για την επιτυχή διαδικασία εκχύλισης και η επιλογή αυτού χρειάζεται να γίνεται ορθά. Τέτοια υλικά είναι τα υλικά βασισμένα στον άνθρακα (π.χ. γραφένιο), τα υλικά βασισμένα σε silica, τα ομοιοπολικά οργανικά πλέγματα (Covalent Organic Frameworks, COFs), τα μοριακά αποτυπωμένα πολυμερή (Molecularly Imprinted Polymers, MIPs), οι ζεόλιθοι, τα μεταλλοργανικά πλέγματα (Metal-Organic Frameworks, MOFs), τα υλικά με ιοντικά υγρά (Ionic Liquids, ILs), τα ισχυρά και ασθενή κατιοντοανταλλακτικά υλικά (Strong/Weak Cation Exchange, SCX/WCX), καθώς και τα ισχυρά και ασθενή ανιοντοανταλλακτικά υλικά (Strong/Weak Anion Exchange, SAX/WAX).

Αποτελεί μια μορφή χρωματογραφίας κατάλληλα σχεδιασμένης για εξαγωγή, διαμερισμό και/ή προσρόφηση ενός ή περισσότερων συστατικών
από μια υγρή φάση (δείγμα) σε μια στατική φάση (προσροφητικό υλικό). Μια προσροφημένη ουσία μπορεί να αφαιρεθεί από το προσροφητικό υλικό με σταδιακή αύξηση της ισχύος έκλουσης του εκλουστικού μέσου.

Οι στήλες SPE κατηγοριοποιούνται με κριτήριο τη φύση του προσροφητικού υλικού που περιέχουν και πιο συγκεκριμένα με βάση τον πρωτογενή μηχανισμό αλληλεπίδρασης του προσροφητικού υλικού με την αναλυόμενη ουσία. Οι πιο συνηθισμένοι μηχανισμοί εκχύλισης που χρησιμοποιούνται είναι:

1. Αντίστροφη Φάσης (Reversed Phase- RP): εκχύλιση υδρόφοβων ή πολικών οργανικών αναλυτών από υδατικό υπόστρωμα.
2. Κανονικής Φάσης (Normal Phase – NP): εκχύλιση πολικών αναλυτών από μη πολικούς οργανικούς διαλύτες.
3. Ανταλλαγής Ιόντων (Ion Exchange): εξαγωγή φορτισμένων αναλυτών από υδατικά ή μη πολικά οργανικά δείγματα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Τα στάδια της εκχύλισης στερεάς φάσης είναι η:

4.1.1. Ενεργοποίηση (conditioning)

Η ενεργοποίηση της στερεής φάση είναι μία απαραίτητη διαδικασία για να εξασφαλιστεί η ενεργοποίηση των δραστικών ομάδων του προσροφητικού υλικού και η αλληλεπίδραση αυτών με την αναλυόμενη ουσία. Επιτυγχάνεται μέσω της διαβίβασης στο προσροφητικό υλικό κατάλληλου διαλύτη χωρίς να αφήνεται το υλικό να στεγνώσει καθώς στην περίπτωση αυτή η διαδικασία της ενεργοποίησης καταστρέφεται (deconditioning).

Κατά κανόνα, τα μη πολικά προσροφητικά υλικά ενεργοποιούνται με ποσότητα διαλυτών ίση με 2-3 όγκους στήλης. Αρχικά, με διαλύτη αναμίξιμο στο νερό (π.χ. μεθανόλη) και έπειτα με διαλύτη στον οποίο διαλύεται η αναλυόμενη ουσία. Αντίθετα, τα πολικά υλικά των στηλών ενεργοποιούνται με μη πολικούς διαλύτες.

4.1.2. Φόρτωση δείγματος (sample application)

Επιτυγχάνεται η κατακράτηση της επιθυμητής ομάδας στο προσροφητικό υλικό. Η προσρόφηση της αναλυόμενης ουσίας γίνεται με συγκεκριμένο ρυθμό ροής ρυθμιζόμενη μέσω της άσκησης πίεσης (εφαρμογή αντλίας κενού).

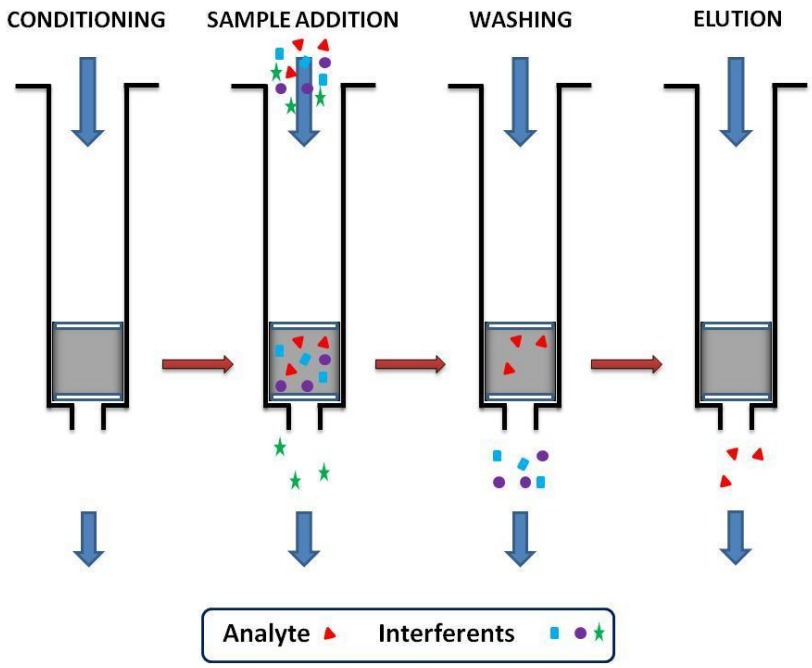
4.1.3. Έκπλυση (washing),

Ένα στάδιο που εφαρμόζεται στις περιπτώσεις που κρίνεται απαραίτητο, στο οποίο γίνεται πλύσιμο του προσροφητικού υλικού με κατάλληλο διάλυμα πλύσης ώστε να απομακρυνθούν οι ανεπιθύμητες ουσίες από αυτό. Στην περίπτωση που η διαφορά πολικότητας ανάμεσα στο διάλυμα έκπλυσης και στο διάλυμα έκλουσης είναι σημαντική ή εάν αν τα δύο διαλύματα δεν είναι αναμίξιμα τότε χρειάζεται να γίνει ξήρανση του προσροφητικού υλικού μετά το πέρας της έκπλυσης ώστε να επιτευχθεί η βέλτιστη έκλουση.

4.1.4. Έκλουση (elution),

Με κατάλληλο διαλύτη παραλαμβάνονται οι αναλύτες. Η διαβίβαση του διαλύτη γίνεται σε ειδική συσκευή κενού και δεν πρέπει να έχει γρήγορο ρυθμό ροής, ο οποίος εξαρτάται από τη διάσταση της στήλης και την ποσότητα του προσροφητικού υλικού σε αυτήν [59], [71], [72].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250



Σχήμα 18: Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας εκχύλισης στερεής φάσης [73].

4.2. Μέθοδος εσωτερικού και εξωτερικού προτύπου

Για τη μέθοδο ποσοτικοποίησης έγινε συνδυασμός των μεθόδων εξωτερικού προτύπου (external standard) και της μεθόδου εσωτερικού προτύπου (internal standard).

Η μέθοδος του εσωτερικού προτύπου εφαρμόζεται με την προσθήκη μίας ουσίας σε σταθερή συγκέντρωση σε όλα τα δείγματα (εμβολιασμένα, λευκά, πραγματικά). Χρησιμοποιείται για την αποφυγή εισαγωγής τυχαίου ή συστηματικού σφάλματος στη μέθοδο σε διαδικασίες όπως η κατεργασία του δείγματος και η εκχύλιση, καθώς το σήμα του εσωτερικού προτύπου και του δείγματος θα επηρεάζονται στον ίδιο βαθμό. Με την εισαγωγή εσωτερικού προτύπου ο λόγος των σημάτων αυτών καθίσταται πιο σταθερός και επαναλήψιμος. Σημαντικό είναι επίσης, να εισάγεται σε τέτοια συγκέντρωση ώστε το σήμα που δίνει να είναι της ίδιας τάξης μεγέθους με τις αναμενόμενες συγκεντρώσεις των αναλυτών στα δείγματα.

Ένας σημαντικός παράγοντας για την επιτυχή ανάπτυξη μίας αναλυτικής μεθόδου είναι η εύρεση της κατάλληλης ουσίας, η οποία θα χρησιμοποιηθεί ως εσωτερικό

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

πρότυπο. Υπάρχουν διάφορες προϋποθέσεις που είναι απαραίτητο να πληροί η ουσία αυτή όπως:

- Να δίνει διαφοροποιημένο σήμα από το σήμα του προσδιοριζόμενου συστατικού στις συνθήκες ανάλυσης και ανίχνευσης της μεθόδου.
- Να μην υπάρχει στο υπόστρωμα των πραγματικών δειγμάτων που θα αναλυθούν.
- Να μην αντιδρά με τις προσδιοριζόμενες ουσίες.
- Να είναι σταθερή για μεγάλο χρονικό διάστημα ώστε να μην μεταβάλλεται η συγκέντρωση του.
- Να προσομοιάζει η αναλυτική της συμπεριφορά με αυτήν του αναλύτη (παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες) και η μέθοδος να αποκρίνεται κατά τον ίδιο τρόπο με τον αναλύτη, δρώντας ωστόσο εκλεκτικά.
- Να μην είναι βλαβερή, ακριβή και να είναι διαθέσιμη σε ικανές ποσότητες.

Για όλους τους παραπάνω λόγους είναι συνήθης τακτική να χρησιμοποιούνται ως εσωτερικά πρότυπα σε μεθόδους LC-MS, ισοτοπικά επισημασμένες ενώσεις, οι οποίες έχουν ακριβώς την ίδια δομή με τις προς ανάλυση ενώσεις με μοναδική διαφορά την αντικατάσταση μερικών ατόμων από τα ισότοπα τους.

Στην παρούσα μέθοδο χρησιμοποιούνται ως εσωτερικά πρότυπα ένα μίγμα ισότοπων ενώσεων, ίδιων με τους περισσότερους αναλύτες, στις οποίες έχει γίνει αντικατάσταση του ^{12}C και ^{16}O με τα ισότοπα ^{13}C και ^{18}O αντίστοιχα.

Εκτός από τη χρήση εσωτερικών προτύπων, συχνά χρησιμοποιούνται και εξωτερικά πρότυπα. Τα εξωτερικά πρότυπα, έχουν τα ίδια χαρακτηριστικά με τα εσωτερικά και προστίθενται αντίστοιχα σε σταθερή συγκέντρωση σε όλα τα δείγματα (εμβολιασμένα, λευκά, πραγματικά). Η ειδοποιός διαφορά με το εσωτερικό πρότυπο είναι ότι η προσθήκη του εξωτερικού προτύπου γίνεται χρονικά αμέσως πριν την τοποθέτηση του δείγματος στη διάταξη οργάνων. Με αυτόν τον τρόπο, ελέγχεται η απόκριση του οργάνου κατά τη διάρκεια ανάλυσης των υπόλοιπων διαλυμάτων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

5. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ / ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

5.1. Ορισμός

Η επικύρωση (validation) μίας μεθόδου αποτελεί μία απαραίτητη διαδικασία για την αξιολόγηση της ή και τη σύγκριση της με μία πρότυπη ή άλλη μέθοδο. Αποτελεί ενός είδους επιβεβαίωση, μέσω εξέτασης και παροχής αντικειμενικών αποδείξεων, ότι ικανοποιούνται οι ιδιαίτερες απαιτήσεις, για μια συγκεκριμένη σκοπούμενη χρήση.

5.2. Είδη Επικύρωσης

Υπάρχουν τρία είδη επικύρωσης. Η Πλήρης Επικύρωση (Full Validation) ,η οποία απαιτείται κατά την ανάπτυξη μιας νέας βιοαναλυτικής μεθόδου, η Μερική (Partial Validation), τροποποίηση μίας ήδη υπάρχουσας πλήρης επικύρωσης κατά συγκεκριμένο ή συγκεκριμένους παράγοντες λόγω αλλαγής συνθηκών της μεθόδου, οργάνου κλπ. Η Διασταυρούμενη (Cross-Validation), η οποία συγκρίνει τις παραμέτρους επικύρωσης δύο ή περισσότερων μεθόδων που χρησιμοποιούνται εξίσου σε μία μελέτη [73].

5.3. Βασικές Αρχές

Κατά τη διαδικασία της επικύρωσης εξετάζονται χαρακτηριστικά ποιότητας αναλύσεως της μεθόδου, τα οποία αξιολογούνται με βάση των απαιτήσεων της εκάστοτε μεθόδου. Μία μέθοδος μπορεί να χαρακτηριστεί ως επικυρωμένη, όταν τα χαρακτηριστικά ποιότητάς της εμφανίζονται επαρκή και κατάλληλα για την αντιμετώπιση ενός αναλυτικού προβλήματος.

Κατά κανόνα η διεξαγωγή μίας επικύρωσης απαιτεί σαφή καθορισμό των ενώσεων που προσδιορίζονται, του υποστρώματος και του εύρους των συγκεντρώσεων που εφαρμόζονται. Επιπρόσθετα, μελετάται η ορθότητα και ακρίβεια των

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

αποτελεσμάτων, ο τρόπος έκφρασης των αποτελεσμάτων σε μονάδες και καθορίζονται τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης.

Η αξιοπιστία της μεθόδου αποδεικνύεται με εργαστηριακά πειράματα, χρησιμοποιώντας δείγματα ή πρότυπα, τα οποία είναι παρόμοια με τα άγνωστα δείγματα που αναλύονται. Η διαδικασία της επικύρωσης των αναλυτικών μεθόδων, πριν εφαρμοσθούν σε αναλύσεις ρουτίνας, αναφέρεται ρητά σε κανονισμούς όπως, η Ορθή Εργαστηριακή Πρακτική (Good Laboratory Practice - GLP) και σε οδηγίες, όπως EN 45001 και ISO 17025 [59].

Οι βασικοί πυλώνες που απαρτίζουν μία ολοκληρωμένη πρόταση επικύρωσης μίας βιοαναλυτικής μεθόδου είναι τόσο οι οδηγίες επικύρωσης όσο και η ανάλυση των δειγμάτων μελέτης αλλά και η τήρηση αρχείων αυτών.

Οι αξιολογήσεις που εκτελούνται κατά την επικύρωση θα πρέπει να σχετίζονται άμεσα με τη ροή εργασιών της ανάλυσης ενός πραγματικού δείγματος. Άρα, το υπόστρωμα που χρησιμοποιείται για την επικύρωση της βιοαναλυτικής μεθόδου θα πρέπει να είναι το ίδιο με αυτό των δειγμάτων της μελέτης, συμπεριλαμβανομένων των αντιπηκτικών και των πρόσθετων. Στην περίπτωση που είναι ανέφικτο να ληφθεί ένα πανομοιότυπο υπόστρωμα με αυτό του δείγματος της μελέτης (π.χ. σπάνια υποστρώματα όπως ιστός, εγκεφαλονωτιαίο υγρό, χολή) τότε γίνεται αντικατάσταση αυτού, η οποία αιτιολογείται επιστημονικά. Ωστόσο, διαφορές ανάμεσα στα υποστρώματα που σχετίζονται με χαρακτηριστικά όπως ηλικία, φύλο, εθνικότητα δεν καθιστούν τα υποστρώματα διαφορετικά κατά την επικύρωση.

Ως προς την τήρηση αρχείων, συνιστάται να υπάρχει μία συγκεκριμένη, λεπτομερής, γραπτή περιγραφή της βιοαναλυτικής μεθόδου και της διαδικασίας επικύρωσης είτε με τη μορφή πρωτοκόλλου είτε με τη μορφή σημειωματάριου.

Για την απόκτηση μεγαλύτερης ακρίβειας αποτελεσμάτων, όλες οι μεταβλητές της μεθόδου, πρέπει να ληφθούν υπόψη, όπως η δειγματοληψία, η προκατεργασία δείγματος, ο διαχωρισμός, η ανάλυση, η ανίχνευση και η αποτίμηση των αποτελεσμάτων.

Η επιτυχής ολοκλήρωση της επικύρωσης μιας μεθόδου οδηγεί στην αξιόπιστη εφαρμογή της σε «πραγματικά δείγματα». Ωστόσο εκτός από την αρχική επικύρωση της μεθόδου απαιτείται μια διαρκής διαδικασία ελέγχου της επικύρωσης

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

της κατά τη διάρκεια της καθημερινής χρήσης της σε αναλύσεις ρουτίνας. Η διαδικασία αυτή όπου μέσω πειραματικής τεκμηρίωσης αποδεικνύεται πως η επικυρωμένη μέθοδος εξακολουθεί να ανταποκρίνεται προς τις απαιτούμενες προδιαγραφές ονομάζεται **επαλήθευση (vertification)**.

Οι λειτουργικές παράμετροι που εξετάζονται κατά τη διάρκεια της επικύρωσης δεν είναι απόλυτες και συνήθως εξαρτώνται από τις ανάγκες της δεδομένης εφαρμογής ή του πεδίου εφαρμογής.

Τέλος, εκτός από την εκτίμηση και τον υπολογισμό των χαρακτηριστικών επίδοσης είναι χρήσιμο να καθορίζονται και τα κριτήρια επίδοσης για τις αναλυτικές μεθόδους που πρόκειται να επικυρωθούν. Για παράδειγμα, δεν αρκεί να υπολογιστεί απλώς το όριο ανίχνευσης μιας μεθόδου προσδιορισμού συγκεκριμένης ένωσης σε ένα δείγμα, αλλά να ελεγχθεί αν αυτό είναι επαρκές για τη συγκεκριμένη ένωση σε αντίστοιχα δείγματα με βάση τη νομοθεσία [74]–[76].

5.4. Προσδιοριζόμενες παράμετροι

Ανεξάρτητα την εκάστοτε οδηγία, τα βασικά χαρακτηριστικά ποιότητας μιας μεθόδου που εξετάζονται συνήθως προκειμένου αυτή να επικυρωθεί είναι τα ακόλουθα:

5.4.1. Εκλεκτικότητα (Selectivity)

Ο όρος εκλεκτικότητα αναφέρεται στην ικανότητα μίας αναλυτικής μεθόδου να διαφοροποιεί και να παρέχει ορθά αναλυτικά αποτελέσματα για κάθε αναλυόμενη ουσία ενός μίγματος ξεχωριστά κατά την παρουσία πιθανών παρεμποδιστικών ουσιών στο υπόστρωμα, όπως έκδοχα, εναντιομερή, μητρικές ή θυγατρικές ενώσεις και προϊόντα αποικοδόμησης.

5.4.2. Ειδικότητα (Specificity)

Ο όρος ειδικότητα αναφέρεται στην ικανότητα μίας αναλυτικής μεθόδου να ανιχνεύει μόνο την αναλυόμενη ουσία που είναι καθορισμένο να μετρηθεί με ένα καθορισμένο επίπεδο ακρίβειας και επαναληψιμότητας ακόμη και αν το δείγμα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

περιέχει ενώσεις με παρόμοιες ιδιότητες (π.χ. δομικά παρόμοιες ενώσεις, μεταβολίτες, ισομερή).

5.4.3. Επίδραση μητρικού υλικού (Matrix Effect)

Ως επίδραση μήτρας ορίζεται η αλλαγή της απόκρισης της αναλυόμενης ουσίας λόγω παρεμβολής, συχνά μη αναγνωισμένου, συστατικού στη μήτρα του δείγματος.

5.4.4. Καμπύλη Βαθμονόμησης & Εύρος (Calibration Curve & Range)

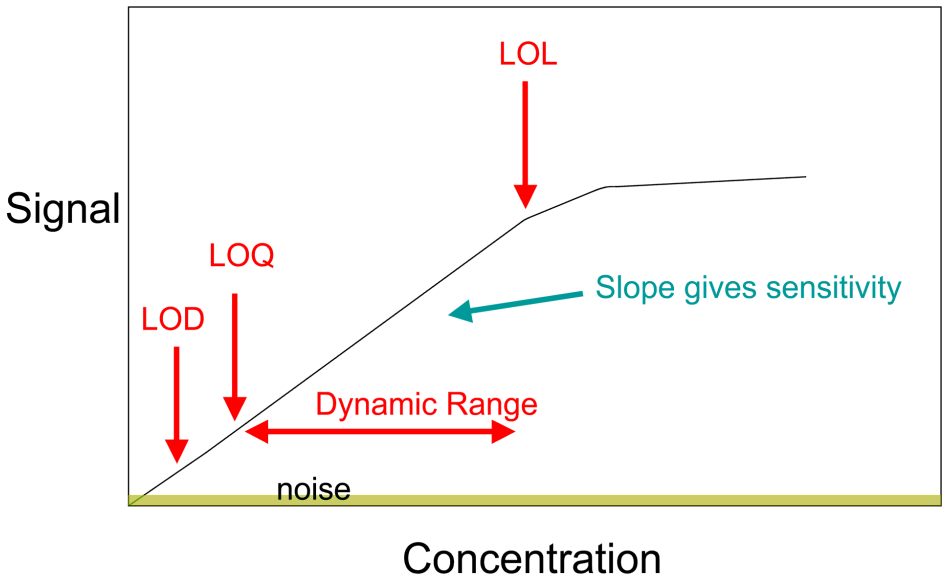
Η καμπύλη βαθμονόμησης απεικονίζει τη σχέση μεταξύ της ονομαστικής συγκέντρωσης της αναλυόμενης ουσίας και την απόκριση αυτής στον αναλύτη.

Στο πλαίσιο της δημιουργίας καμπύλης βαθμονόμησης, εντάσσεται και η έννοια της γραμμικότητας, δηλαδή η ικανότητα να υπολογίζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων άμεσα, ή με προκαθορισμένες μαθηματικές μετατροπές, σε αναλογία με τη συγκέντρωση των προσδιοριζόμενων συστατικών ενός δείγματος σε συγκεκριμένο εύρος συγκεντρώσεων.

Το εύρος της βαθμονόμησης ορίζεται από το χαμηλότερο όριο ποσοτικοποίησης (LLOQ), το οποίο αποτελεί και το χαμηλότερο πρότυπο βαθμονόμησης και από το υψηλότερο όριο ποσοτικοποίησης (ULOQ), το οποίο, αντίστοιχα, αποτελεί το υψηλότερο πρότυπο βαθμονόμησης. Στις οριακές αυτές συγκεντρώσεις χρειάζεται να έχει αποδειχθεί ότι η αναλυτική μέθοδος έχει κατάλληλο επίπεδο ακρίβειας, γραμμικότητας και επαναληψιμότητας.

Κατά τη διαδικασία δημιουργίας μίας καμπύλης βαθμονόμησης διερευνάται η σχέση της συγκέντρωσης του αναλύτη του δείγματος και του εμβαδού της κορυφής του (ή ο λόγος εμβαδού της κορυφής του αναλύτη προς το εμβαδό της κορυφής του αντίστοιχου εσωτερικού προτύπου). Στη συνέχεια γίνεται στατιστική αξιολόγηση της συνάρτησης απόκρισης και εφαρμόζεται ένα απλό μοντέλο παλινδρόμησης (συνήθως γραμμικό) και προσδιορίζεται ένα σχήμα στάθμισης και η συνάρτηση απόκρισης. Στην περίπτωση γραμμικού μοντέλου η εξίσωση της καμπύλης είναι της μορφής $y=ax+b$, όπου α είναι η κλίση και b η τομή της με τον άξονα των τεταγμένων και παρουσιάζονται οι αναδρομικά υπολογισμένες συγκεντρώσεις των προτύπων (back-calculated concentrations).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250



Σχήμα 19: Διάγραμμα καμπύλης βαθμονόμησης που απεικονίζει το όριο ανίχνευσης (LOD), το όριο ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ), το εύρος, την κλίση κα τοι όριο γραμμικότητας (LOL) [78].

5.4.5. Ακρίβεια (Accuracy)

Η ακρίβεια μιας αναλυτικής μεθόδου είναι ο βαθμός συμφωνίας των αποτελεσμάτων που παράγονται από τη μέθοδο με την πραγματική τιμή, ή μια παραδεκτή ως πραγματική τιμή.

Το **όριο εμπιστοσύνης (CL- confidence limits)** είναι ο βαθμός αβεβαιότητας για το μέσο όρο που οφείλεται στις μεταβολές των επαναλαμβανόμενων προσδιορισμών.

$$CL = \bar{x} \pm t * \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

,όπου $\bar{x}$: μέση τιμή των μετρήσεων, SD: τυπική απόκλιση

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

,για n<10

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

5.4.6. Πιστότητα (Precision)

Η πιστότητα της μεθόδου είναι ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των αποτελεσμάτων, όταν η διαδικασία εφαρμόζεται κατ' επανάληψη σε πολλαπλά δείγματα. Η πιστότητα μπορεί να διαιρεθεί σε δύο υποσύνολα:

1. **Επαναληψιμότητα (Repeatability)**: αποτελεί το μέτρο της διασποράς των τιμών των αναλυτικών αποτελεσμάτων μιας σειράς διαδοχικών ελέγχων στο ίδιο δείγμα και σε βραχύ χρονικό διάστημα, που εκτελούνται κάτω από τις ίδιες συνθήκες.

   Μαθηματικά εκφράζεται από τη σχετική τυπική απόκλιση RSD (Relative Standard Deviation) ή το συντελεστή διακύμανσης CV (Coefficient of variance):

$$RSD\ (\%) = \frac{SD\ * 100}{\bar{X}}$$

2. **Αναπαραγωγιμότητα (Reproducibility)**: ορίζεται το μέτρο της διασποράς μεταξύ των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται με την ίδια μέθοδο στο ίδιο δείγμα, κάτω από διαφορετικές συνθήκες, για παράδειγμα διαφορετικός αναλυτής, διαφορετικές συσκευές, διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων, διαφορετικούς χρόνους.

5.4.7. Μόλυνση εκ μεταφοράς (Carry – over)

Το φαινόμενο μεταφοράς ορίζεται ως η μεταβολή της μετρούμενης συγκέντρωσης λόγω υπολειπόμενης αναλυόμενης ουσίας από προηγούμενη έγχυση δείγματος που παραμένει στο αναλυτικό όργανο.

5.4.8. Ακεραιότητα Αραίωσης (Dilution Integrity)

Η ακεραιότητα αραίωσης ορίζεται ως η αξιολόγηση της διαδικασίας αραίωσης ενός δείγματος με τυφλό δείγμα (blank) για να επιβεβαιωθεί ότι δεν επηρεάζει την ορθότητα και την πιστότητα της αναλυόμενης ουσίας. Αφορά διαλύματα που ποσοτικοποιούνται σε τιμή > ULOQ.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

5.4.9. Σταθερότητα (Stability)

Διενεργούνται πειράματα-αξιολόγησης της σταθερότητας για να διασφαλίζεται σε κάθε βήμα που λαμβάνει χώρα κατά τη διαδικασία της προετοιμασίας, επεξεργασίας και ανάλυσης του δείγματος αλλά και των προτύπων ότι οι συνθήκες αποθήκευσης που χρησιμοποιούνται δεν μεταβάλλουν τη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας και δεν αλλοιώνουν το δείγμα. Επιπρόσθετα, μελετάται και η σταθερότητα του υποστρώματος κατά τη διαδικασία ψύξης-απόψυξης.

5.4.10. Αναπαραγωγιμότητα Επανέγχυσης (Reinjection Reproducibility)

Η αναπαραγωγιμότητα επανέγχυσης εξετάζεται και αξιολογείται στην περίπτωση που ένα δείγμα, χρειάζεται να εγχυθεί εκ νέου στο όργανο (π.χ. λόγω διακοπής του οργάνου ή λόγω αστοχίας του εξοπλισμού).

5.4.11. Ευαισθησία (sensitivity, S)

Η ευαισθησία εκφράζει τη μεταβολή του σήματος προς τη μεταβολή της συγκέντρωσης του αναλύτη και έχει μονάδες σήματος προς συγκέντρωση. Συνήθως εκφράζεται από την κλίση (slope) της καμπύλης αναφοράς.

Ο όρος ευαισθησία της μεθόδου αναφέρεται στην ικανότητά της να αναγνωρίζει μικρές μεταβολές στη συγκέντρωση του προσδιοριζόμενου συστατικού. Είναι ο λόγος σήματος προς τη μάζα και δίνεται από την κλίση της ευθείας.

Σταθερή τιμή ευαισθησίας συνεπάγεται γραμμική σχέση μετρούμενης παραμέτρου και αναλυτικής πληροφορίας. Η αντίστοιχη περιοχή όπου η ευαισθησία θα παρουσιάζει σταθερή τιμή ονομάζεται γραμμική δυναμική περιοχή (linear dynamic range). Αντίστοιχα, η περιοχή στην οποία υπάρχει ευαισθησία και έχει μια σαφή τιμή, καλείται δυναμική περιοχή (dynamic range).

Τέλος, αναφέρεται πως η ευαισθησία είναι χαρακτηριστικό οργανολογικού χαρακτήρα και ως εκ τούτου δεν είναι δυνατό να συγκριθούν οι τιμές ευαισθησίας δύο τελείως διαφορετικών μεθόδων, εφόσον δεν εκφράζονται στις ίδιες μονάδες. Αντίθετα, δύναται να συγκριθούν, ως προς την ευαισθησία, παραλλαγές μιας

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

δεδομένης ενόργανης μεθόδου για δεδομένο προσδιοριζόμενο συστατικό, ή η ευαισθησία μιας μεθόδου, ως προς διάφορα προσδιοριζόμενα συστατικά.

Η ευαισθησία αναφέρεται πολλές φορές και ως η ικανότητα μίας μεθόδου να αποκρίνεται αξιόπιστα σε ελαττούμενες συγκεντρώσεις του αναλύτη. Στην περίπτωση αυτή χρησιμοποιούνται ως κριτήρια το όριο ανίχνευσης (LOD) και το κατώτερο όριο ποσοτικοπίησης (LOQ).

- **Όριο ανίχνευσης (LOD)** είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση του αναλύτη, στην οποία μπορεί να ανιχνευθεί πάνω από τη βασική γραμμή θορύβου (baseline) του ανιχνευτή στην πιο ευαίσθητη ρύθμιση του οργάνου χωρίς απαραίτητα να είναι εφικτό να προσδιοριστεί ποσοτικά. Πρακτικά, το όριο ανίχνευσης είναι η εισαγόμενη ποσότητα που παρέχει κορυφή που μπορεί να διαφοροποιηθεί από το υπόστρωμα και να αναγνωρισθεί είτε άμεσα είτε από δεδομένα της επικύρωσης.

Ο προσδιορισμός του ορίου ανίχνευσης γίνεται είτε με τον υπολογισμό του λόγου σήματος προς τον θόρυβο (S/N – Signal/Noise) είτε με τη χρήση της γραμμικής εξίσωσης της καμπύλης βαθμονόμησης της μορφής y=ax + b, όπου a είναι η κλίση της καμπύλης βαθμονόμησης και S η συνάρτηση που υπολογίζει το τυπικό σφάλμα της προβλεπόμενης τιμής του y (σήμα) για κάθε τιμή του x (συγκέντρωση) στην παλινδρόμηση.

$$LOD = 3.3 * \frac{S}{a}$$

- **Κατώτερο όριο ποσοτικοποίησης (LLOQ)** είναι η μικρότερη εισαγόμενη ποσότητα αναλύτη, πάνω από το θόρυβο βασικής γραμμής που παρέχει επαναλήψιμα εμβαδά κορυφής και μπορεί να προσδιοριστεί ποσοτικά. Το όριο ποσοτικοποίησης πρέπει να ικανοποιεί τις απαιτήσεις ακρίβειας και επαναληψιμότητας και να είναι εντός του γραμμικού εύρους συγκέντρωσης στην καμπύλη βαθμονόμησης.

$$LLOQ = 10 * \frac{S}{a}$$

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

- **Ανώτερο όριο ποσοτικοποίησης (ULOQ)** είναι η υψηλότερη εισαγόμενη ποσότητα αναλύτη που παρέχει επαναλήψιμα εμβαδά κορυφής και μπορεί να προσδιοριστεί ποσοτικά με καθορισμένη ορθότητα και πιστότητα.

5.4.12. Ανάκτηση από εκχύλιση (Extraction Recovery)

Η ανάκτηση είναι το ποσοστό της μετρούμενης συγκέντρωσης μίας ουσίας σε ένα δείγμα σε σχέση με την πραγματική συγκέντρωση αυτής.

Κατά τη διαδικασία προκατεργασίας ενός δείγματος για την απομόνωση και την παραλαβή των προς ανάλυση ουσιών και ειδικότερα κατά την πιθανή εφαρμογή μίας τεχνικής εκχύλισης προκύπτει διαφορά ανάμεσα στην αρχική συγκέντρωση των ουσιών αυτών στο δείγμα και στην ποσότητα τους που εν τέλει ανακτάται έπειτα από την επεξεργασία. Η διαφορά αυτή εκφράζεται ως ποσοστό και αποτελεί την ανάκτηση, έναν από τις σημαντικότερους παράγοντες σε μία αναλυτική μέθοδο.

Για τον υπολογισμό της «απόλυτης» ανάκτησης δημιουργείται ένα πρότυπο διάλυμα ίσης συγκέντρωσης με αυτή του εμβολιασμένου δείγματος και συγκρίνονται.

$$ανάκτηση\ \% = \frac{απόκριση\ εμβολιασμένου\ δείγματος}{απόκριση\ πρότυπου\ διαλύματος} * 100$$

Η ανάκτηση αποδεικνύει την αποδοτικότητα της πειραματικής διαδικασίας κατά την προκατεργασία ενός δείγματος ώστε να εκχυλίζεται και κατά συνέπεια να παραλαμβάνεται από αυτό η ένωση – στόχος σε τέτοιο βαθμό ώστε να ανταποκρίνεται όσο το δυνατό περισσότερο στην πραγματική τιμή. Παρόλο που πλήρης ανάκτηση θεωρείται το ποσοστό ίσο με 100%, δηλαδή όταν όλη η ποσότητα του αναλύτη μεταφερθεί από το δείγμα (αρχικό υπόστρωμα) στο τελικό διάλυμα, τις περισσότερες φορές, αν και επιθυμητό, δεν είναι εφικτό. Το σημαντικό είναι το λαμβανόμενο ποσοστό να είναι ένα υψηλό, εντός των προβλεπόμενων ορίων, και σταθερό.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

5.4.13. Σταθερότητα (Stability)

Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης μίας μεθόδου και της επικύρωσής της θα πρέπει να αξιολογείται η σταθερότητα για να διασφαλίζεται ότι κάθε βήμα που εκτελείται κατά την προετοιμασία, την επεξεργασία και την ανάλυση του δείγματος, καθώς και οι συνθήκες αποθήκευσης που χρησιμοποιούνται δεν επηρεάζουν τη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας. Αναλυτικότερα, παράγοντες όπως ο χρόνος αποθήκευσης, η θερμοκρασία, η φύση του υποστρώματος του δείγματος, τα υλικά του περιέκτη κατέχουν σημαντικό ρόλο στη μη αλλοίωση των αποτελεσμάτων.

Επίσης, συχνά είναι ζητούμενο να αξιολογηθούν οι ακόλουθες δοκιμές σταθερότητας:

Σταθερότητα της αναλυόμενης ουσίας στο υπόστρωμα:

1. Σταθερότητα κύκλων κατάψυξης-απόψυξης του υποστρώματος (Freeze-thaw matrix stability).
2. Βραχυπρόθεσμη σταθερότητα υποστρώματος (Bench top, short-term matrix stability).
3. Μακροπρόθεσμη σταθερότητα υποστρώματος (Long-Term Stability in Matrix).

Σταθερότητα της αναλυόμενης ουσίας σε προ κατεργασμένα δείγματα:

1. Σταθερότητα του επεξεργασμένου δείγματος υπό συνθήκες αποθήκευσης που θα χρησιμοποιηθεί κατά τη διάρκεια της ανάλυση των δειγμάτων της μελέτης (π.χ. εκχύλιση)
2. Σταθερότητα επί του οργάνου ή του αυτόματου δειγματολήπτη του επεξεργασμένου δείγματος.

Σταθερότητα της αναλυόμενης ουσίας και του εσωτερικού προτύπου στα διαλύματα παρακαταθήκης και εργασίας [76]–[79].

5.5. Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis M10, 2022

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Από το 2000 και έπειτα έχουν εκδοθεί διάφορα κανονιστικά κείμενα-οδηγίες επικύρωσης βιοαναλυτικών μεθόδων για τον προσδιορισμό ουσιών που σχετίζονται με τη βιοπαρακολούθηση με τη χρήση χρωματογραφικών τεχνικών, όπως για παράδειγμα η Guideline on Bioanalytical Method Validation (2011), European Medicines Agency (EMA) και η Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation (2018), U.S. Food & Drug Administration (FDA). Από τότε έχει ξεκινήσει ένα διεθνής, συνεχής διάλογος μεταξύ των σχετικών βιομηχανιών και των κανονιστικών αρχών σε σχέση με τις απαιτήσεις των εκάστοτε οδηγιών επικύρωσης των μεθόδων ανά τον κόσμο και τις διαφορές αυτών. Για αυτόν τον λόγο η εναρμόνιση σε μία παγκόσμια κοινή οδηγία και η εξάλειψη των διαφορών ανάμεσα στις ήδη υπάρχουσες ήταν αναγκαία και με γνώμονα την πρόκληση αυτή δημιουργήθηκε ο κανονισμός “Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis M10, Final version 2022” από το ο Διεθνές Συμβούλιο για την εναρμόνιση των απαιτήσεων για την καταχώριση φαρμακευτικών προϊόντων για ανθρώπινη χρήση (International Council for Harmonisation of Technical Requirements or Pharmaceuticals for Human Use, ICH), ως μία προσπάθεια ενοποίησης των ήδη υπαρχόντων οδηγιών.

Αποτελεί μία κατευθυντήρια οδηγία με σκοπό την παροχή συστάσεων για την επικύρωση βιοαναλυτικών δοκιμών ποσοτικοποίησης χημικών, βιολογικών φαρμακευτικών ουσιών και την εφαρμογή τους στην ανάλυση δειγμάτων. Προορίζεται για την ποσοτική ανάλυση με τεχνικές δέσμευσης (ligand binding assays, LBA) και χρωματογραφικές μεθόδους, όπως η υγρή ή η αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματογράφο μάζας ή άλλους ανιχνευτές.

Η συγκεκριμένη οδηγία, σύμφωνα με την οποία επικυρώθηκε και η παρούσα μελέτη, ορίζει για τις παραμέτρους της μεθόδου τα εξής:

Εκλεκτικότητα & Ειδικότητα (Selectivity & Specificity): Εξετάζονται μηδενικά δείγματα (δείγματα υποστρώματος χωρίς προσθήκη κάποιου αναλύτη ή εσωτερικού προτύπου), τα οποία λαμβάνονται από τουλάχιστον έξι διαφορετικές και ανεξάρτητες πηγές/παρτίδες. Τα μηδενικά δείγματα ελέγχονται για την παρουσία παρεμποδίσεων, οι οποίες χρειάζεται να είναι μικρότερες του 20% σε

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

σχέση με την τιμή του κατώτερου ορίου ποσοτικοποίησης (LLOQ) ενώ για τα εσωτερικά πρότυπα το ποσοστό χρειάζεται να είναι μικρότερο του 5%.

Επίδραση Υποστρώματος (Matrix Effect): Εξετάζονται τουλάχιστον τρεις επαναλήψεις ενός χαμηλού και ενός υψηλού δείγματος ελέγχου ποιότητας, καθένα παρασκευασμένο χρησιμοποιώντας υποστρώματα από τουλάχιστον έξι διαφορετικές και ανεξάρτητες πηγές/παρτίδες. Η ακρίβεια θα πρέπει να βρίσκεται εντός του ±15% της ονομαστικής συγκέντρωσης και η πιστότητα (εκφρασμένη ως επί τοις εκατό συντελεστής διακύμανσης, %CV) να είναι μικρότερη από το 15% σε όλα τα υποστρώματα διαφορετικών πηγών.

Καμπύλη Βαθμονόμησης & Εύρος (Calibration Curve & Range): Η καμπύλη βαθμονόμηση θα πρέπει να περιλαμβάνει ένα λευκό δείγμα, ένα τυφλό δείγμα (λευκό δείγμα εμβολιασμένο με εσωτερικά πρότυπα) και τουλάχιστον έξι πρότυπα διαλύματα βαθμονόμησης σε διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεων συμπεριλαμβανομένου του κατώτερου και ανώτερου ορίου ποσοτικοποίησης (LLOQ και ULOQ). Όλα τα πρότυπα θα πρέπει να κατανέμονται εντός του εύρους βαθμονόμησης έτσι, ώστε να προσεγγιστεί το βέλτιστο μοντέλο βαθμονόμησης. Η καμπύλη βαθμονόμησης απαιτείται να αναλυθεί 3 φορές εντός μερικών ημερών.

Ακρίβεια & Πιστότητα (Accuracy & Precision): Εξετάζονται τουλάχιστον τέσσερα δείγματα ελέγχου (QC samples), τα οποία έχουν ως στόχο να προσομοιάσουν τα δείγματα της μελέτης και θα πρέπει να παρασκευάζονται με εμβολιασμό του υποστρώματος με γνωστή ποσότητα αναλυόμενης ουσίας και να αποθηκεύονται υπό τις προβλεπόμενες συνθήκες για τα δείγματα της μελέτης.

Τα δείγματα ελέγχου θα πρέπει να προετοιμάζονται από ξεχωριστά διαλύματα παρακαταθήκης προκειμένου να αποφευχθούν μεροληπτικές εκτιμήσεις που δεν σχετίζονται με την αναλυτική απόδοση της μεθόδου.

Κατά την επικύρωση της μεθόδου, τα δείγματα ελέγχου για δοκιμές ακρίβειας και πιστότητας θα πρέπει να προετοιμάζονται σε τουλάχιστον τέσσερα επίπεδα συγκέντρωσης εντός του εύρους καμπύλης βαθμονόμησης:

1. Συγκέντρωση ίση με το LLOQ.
2. Συγκέντρωση ίση με το εύρος ανάμεσα στο LLOQ και στην τριπλάσια τιμή του (χαμηλό QC).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

3. Συγκέντρωση περίπου μεταξύ 30 - 50% του εύρους καμπύλης βαθμονόμησης (μεσαίο QC) .
4. Συγκέντρωση τουλάχιστον ίση με το 75% του ULOQ (υψηλό QC).

Όλες οι παραπάνω συγκεντρώσεις δειγμάτων ελέγχου θα πρέπει να αναλυθούν τουλάχιστον πέντε φορές η κάθε μία σε κάθε αναλυτική σειρά (analytical run) και συνολικά να γίνουν τουλάχιστον 3 αναλυτικές σειρές εντός 2 ημερών. Τέλος, σε τουλάχιστον μία αναλυτική σειρά τα δείγματα ελέγχου πρέπει να έχουν προετοιμαστεί από καινούργια διαλύματα εργασίας.

Η ακρίβεια σε κάθε επίπεδο συγκέντρωσης πρέπει να είναι εντός ±15% της ονομαστικής συγκέντρωσης, εκτός από το LLOQ, όπου θα πρέπει να είναι εντός ±20%. Η πιστότητα (%CV) των συγκεντρώσεων που προσδιορίζονται σε κάθε επίπεδο δεν πρέπει να υπερβαίνει το 15%, εκτός από το LLOQ, όπου δεν πρέπει να υπερβαίνει το 20%.

Coefficient of Variation: $\%CV = \frac{SD}{Μέσο\ όρο} x\ 100$

,SD = τυπική απόκλιση (standard deviation)

Μόλυνση εκ μεταφοράς (Carry-over): Κατά την επικύρωση, το φαινόμενο μεταφοράς θα πρέπει να αξιολογείται αναλύοντας τυφλά δείγματα μετά το πρότυπο βαθμονόμησης στο ULOQ. Η μεταφορά στα τυφλά δείγματα που ακολουθούν το υψηλότερο πρότυπο βαθμονόμησης δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερη από το 20% της απόκρισης της αναλυόμενης ουσίας στο LLOQ και από το 5% της απόκρισης για τα εσωτερικά πρότυπα.

Ακεραιότητα Αραίωσης (Dilution Integrity): Τα πρέπει να παρασκευάζονται με συγκεντρώσεις αναλυόμενης ουσίας στο υπόστρωμα που είναι μεγαλύτερες από το ULOQ και στη συνέχεια να αραιώνονται με τυφλό δείγμα. Τουλάχιστον 5 επαναλήψεις ανά παράγοντα αραίωσης θα πρέπει να ελέγχονται σε μία δοκιμή για να προσδιοριστεί εάν οι συγκεντρώσεις μετρούνται με ακρίβεια και πιστότητα εντός του εύρους βαθμονόμησης. Οι συντελεστές αραίωσης και οι συγκεντρώσεις που εφαρμόζονται κατά την ανάλυση του δείγματος της μελέτης θα πρέπει να βρίσκονται εντός του εύρους των παραγόντων αραίωσης και των συγκεντρώσεων που αξιολογούνται κατά την επικύρωση.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Η μέση ακρίβεια των δειγμάτων ελέγχου αραίωσης πρέπει να είναι ±15% της ονομαστικής συγκέντρωσης και η ακρίβεια (%CV) δεν πρέπει να υπερβαίνει το 15%.

Αναπαραγωγιμότητα Επανέγχυσης (Reinjection Reproducibility): Η αναπαραγωγιμότητα της επανέγχυσης αξιολογείται με την επανέγχυση μιας σειράς που αποτελείται από πρότυπα βαθμονόμησης και τουλάχιστον 5 επαναλήψεις του χαμηλού, μεσαίου και υψηλού QC έπειτα από αποθήκευση.

Σταθερότητα (Stability): η επικύρωση των περιόδων αποθήκευσης θα πρέπει να πραγματοποιείται σε δείγματα ελέγχου που έχουν αποθηκευτεί για χρονικό διάστημα ίσο ή μεγαλύτερο από την περίοδο αποθήκευσης του δείγματος της μελέτης. Η σταθερότητα της αναλυόμενης ουσίας στο υπόστρωμα αξιολογείται με την ανάλυση δειγμάτων ελέγχου χαμηλής και υψηλής συγκέντρωσης, όπου μέρος αυτών αναλύονται τη στιγμή «μηδέν» και αναλύονται εκ νέου έπειτα από τις εφαρμοζόμενες συνθήκες αποθήκευσης που πρόκειται να αξιολογηθούν εντός του προκαθορισμένου χρονικού διαστήματος. Τα δείγματα ελέγχου θα πρέπει να αναλύονται με βάση μια καμπύλη βαθμονόμησης, η οποία λαμβάνεται από πρότυπα βαθμονόμησης με πρόσφατα διαλύματα σε μια σειρά με τα αντίστοιχα πρόσφατα δείγματα ελέγχου ή δείγματα ελέγχου για τα οποία έχει αποδειχθεί η σταθερότητα. Η μέση συγκέντρωση σε κάθε επίπεδο δείγματος ελέγχου πρέπει να είναι εντός ±15% της ονομαστικής συγκέντρωσης [80], [81].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 5-1: Παράμετροι Επικύρωσης, οδηγίες και όρια [81].

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ	ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΑ ΟΡΙΑ
Εκλεκτικότητα	Τυφλό Δείγμα από 6 διαφορετικές πηγές δειγμάτων	< 20% από LLOQ
Ειδικότητα		<5% από το LLOQ για εσωτερικά πρότυπα
Επίδραση Υποστρώματος	3 επαναλήψεις από χαμηλό & υψηλό QC από 6 διαφορετικές πηγές δειγμάτων	Ακρίβεια ±15% από τη θεωρητική συγκέντρωση Πιστότητα %CV < 15%
Καμπύλη Βαθμονόμησης & Εύρος	Λευκό Δείγμα Τυφλό Δείγμα 6 πρότυπα διαλύματα βαθμονόμησης με διαφορετικές συγκεντρώσεις (+LLOQ, ULLOQ) x3 σειρές αναλύσεων μέσα σε μερικές μέρες	Ακρίβεια ± 15% εκτός από την τιμή του LLOQ ± 20% Επαναλαμβανόμενοι γύροι ≥ 50% ανά επίπεδο συγκέντρωσης
Ακρίβεια	4 επίπεδα από δείγματα ελέγχου: 1. LLOQ 2. ≤ 3 LLOQ 3. 30-50% του εύρους της καμπύλης βαθμονόμησης 4. ≥ 75% ULOQ 5 επαναλήψεις από κάθε δείγμα ελέγχου x3 σειρές αναλύσεων μέσα σε 2 μέρες	Ακρίβεια ± 15% εκτός από την τιμή του LLOQ ± 20% Πιστότητα (%CV) < 15% εκτός από την τιμή του LLOQ < 20%
Πιστότητα		
Μόλυνση εκ μεταφοράς	Τυφλό δείγμα έπειτα από το ULOQ	< 20% από το LLOQ < 5% για τα εσωτερικά πρότυπα
Ακεραιότητα Αραίωσης	Δείγματα ελέγχου αραίωσης x5 επαναλήψεις το κάθε ένα στην ίδια σειρά αναλύσεων	Ακρίβεια ±15% από τη θεωρητική συγκέντρωση Πιστότητα %CV < 15%
Αναπαραγωγιμότητα Επανέγχυσης	χαμηλού, μεσαίου & υψηλού δείγματος ελέγχου x5 επαναλήψεις το κάθε ένα έπειτα από αποθήκευση τους	
Σταθερότητα	Χαμηλό & υψηλό δείγμα ελέγχου Έλεγχος αρχικά (t=0) και έπειτα από χρόνο t	Μέση συγκέντρωση σε κάθε επίπεδο δείγματος ελέγχου = ±15% της ονομαστικής συγκέντρωσης

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

6. ΥΛΙΚΑ & ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

6.1. Εργαστηριακά σκεύη & Αναλώσιμα

1. Γυάλινες σφαιρικές φιάλες 50 mL.
2. Πλαστικά διάφανα φιαλίδια όγκου 1.5 mL με βιδωτό πώμα κατάλληλα για υγρή χρωματογραφία.
3. Πλαστικά σωληνάρια φυγοκέντρισης (PP, τύπου Falcon) όγκου 15 mL με βιδωτό πώμα.
4. Γυάλινες πιπέτες Pasteur των 150 mm.
5. Φυσίγγια για εκχύλιση στερεάς φάσης OASIS WAX, bed wt. 30 mg, volume 3 mL.
6. Σπάτουλες και σκαφίδια ζύγισης.
7. Πλαστικά και γυάλινα ποτήρια ζέσεως των 25 mL, 50 mL και 100 mL.
8. Πλαστικοί και γυάλινοι ογκομετρικοί κύλινδροι των 10 mL, 25 mL και 50 mL.
9. Γυάλινα σωληνάρια συλλογής εκχυλισμάτων (για το σύστημα συστοιχίας κενού εκχύλισης στερεάς φάσης).
10. Μέσα ατομικής προστασίας (εργαστηριακή ποδιά, γάντια νιτριλίου, προστατευτικά γυαλιά).

6.2. Όργανα & Διατάξεις

1. Αναλυτικός ζυγός ακριβείας (5 δεκαδικών ψηφίων) AB 135-S/FACT, Mettler Toledo.
2. Αυτόματες πιπέτες Gilson μεταβλητού όγκου 1-10 μL (M10), 10-100 μL (M100) και 100-1000 μL (M1000).
3. Συσκευή υπερκάθαρου νερού Ultra Clear® TWF UV with 30 liter permeate tank, SG Wasseraufbereitung und Regenerierstation Gmb.
4. Ψυχόμενη φυγόκεντρος Thermo ScientificTM Heraeus LabofugeTM 400R.
5. Αυτόματος αναδευτήρας περιδίνησης Vortex MS1 Minishaker IKA®Agytax.
6. Ψηφιακό εργαστηριακό pH-μετρο πάγκου CG 842, Schott Geräte GmbH.
7. Περιστροφικός εξατμιστήρας κενού, Heidolph/WB2001,VV2011.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

8. Εργαστηριακή αντλία κενού Thomas Industries Inc. model 905CD18 524 ITFE, Gilford Instruments Lab. USA model 3022A.
9. Σύστημα συστοιχίας κενού για εκχύλιση στερεάς φάσης 10 θέσεων IST Vac Master 10.
10. Σύστημα συμπύκνωσης διαλυμάτων με ρεύμα αζώτου Techne®, Bibby Scientific.
11. Λουτρό υπερήχων Grant / MXB-14.
12. Σύστημα υγρής χρωματογραφίας συνδεδεμένη με φασματογράφο μάζας συστοιχίας τριών τετράπολων, SHIMADZU LC-MS/MS-8060 NX, Kyoto, Japan (Degasser DGU-405, Pump LC-40D, Autosampler SIL-40C, Column Oven CTO-40C)

6.3. Αντιδραστήρια

6.3.1. Πρότυπες ουσίες

1. $^{13}C_8$-PFOA εξωτερικό πρότυπο (injection standard) – Wellington Laboratories, M8PFOA, 48.9 μg/ml.
2. $^{13}C_8$-PFOS εξωτερικό πρότυπο (injection standard) – Wellington Laboratories, M8PFOS, 50 μg/mL.
3. PFC-MIX – Wellington Laboratories, PFC-MXA, 2 μg/mL.
4. PFS-MIX – Wellington Laboratories, PFS-MXA, 2 μg/mL.
5. Μίγμα εσωτερικών επισημασμένων προτύπων (Internal Standard Label Mix) – Wellington Laboratories, MPFAC-MXA, 2 μg/mL.

6.3.2. Διαλύτες

1. Υπερκάθαρο νερό (ddH_2O) (βλέπε 6.2)
2. Μεθανόλη (MeOH), Methanol LC-MS Grade (≥ 99.9%), Fisher Chemical
3. Ακετονιτρίλιο (ACN), Acetonitrile LC-MS Reagent, J.T. Baker®
4. Φορμικό οξύ (CH_2O_2), Formic acid for mass spectrometry, Honeywell Fluka TM
5. Οξικό αμμώνιο ($NH_4CH_3CO_2$) (approx. 98%)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

6. Υδροξείδιο του αμμωνίου (NH_4OH)

6.3.3. Διαλύματα

6.3.3.1. Πρότυπα Διαλύματα

Παρασκευάζονται τα $^{13}C_8$-PFOA, $^{13}C_8$-PFOS πυκνού διαλύματος σε συγκεντρώσεις των 5.0 μg/mL σε μεθανόλη και αποθηκεύονται στους -20°C. Επίσης, παρασκευάζονται τα μίγματα PFS, PFC και MPFAC σε συγκεντρώσεις των 0.5 μg/mL σε μεθανόλη, τα οποία χρησιμοποιούνται για τον εμβολιασμό δειγμάτων και για τα διαλύματα βαθμονόμησης. Τα διαλύματα βαθμονόμησης παρασκευάζονται με αραίωση έως 100 ng/mL.

6.3.3.2. Διαλύματα Βαθμονόμησης

Τα διαλύματα βαθμονόμησης (calibration solutions) παρασκευάζονται με ανάμιξη κατάλληλων ποσοτήτων από τα διαλύματα εργασίας με τελικές συγκεντρώσεις 0, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0 ng/mL και διάλυση σε ACN /2 mM οξικού αμμωνίου σε υπερκάθαρο νερό ώστε να προκύψει διάλυμα με τις παρακάτω τελικές συγκεντρώσεις για κάθε αντιδραστήριο (Πίνακας 6-1):

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 6-1: Συγεντρώσεις και ποσότητες των διαλυμάτων για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης.

Συγκέντρωση (ng/mL)	Ingection standard mix M8PFOS, M8PFOA (100 ng/mL)	Internal Standard label mix (100 ng/mL)	PFC + PFS – MXA mix (100 ng/mL)	PFC + PFS – MXA mix (10 ng/mL)	PFC + PFS – MXA mix (1 ng/mL)	ACN	2 mM ammonium acetate/ H2O
0	25 μL	25 μL	-	-	-	275 μL	675 μL
0.01	25 μL	25 μL	-		10 μL	265 μL	675 μL
0.02	25 μL	25 μL	-		200 μL	255 μL	675 μL
0.05	25 μL	25 μL	-	-	50 μL	225 μL	675 μL
0.1	25 μL	25 μL	-	-	100 μL	175 μL	675 μL
0.2	25 μL	25 μL	-	20 μL	-	255 μL	675 μL
0.5	25 μL	25 μL	-	50 μL	-	225 μL	675 μL
1.0	25 μL	25 μL	-	100 μL	-	175 μL	675 μL
2.0	25 μL	25 μL	20 μL	-	-	255 μL	675 μL
5.0	25 μL	25 μL	50 μL	-	-	225 μL	675 μL
10.0	25 μL	25 μL	100 μL	-	-	175 μL	675 μL
15.0	25 μL	25 μL	150 μL	-	-	125 μL	675 μL

6.3.3.3. Διάλυμα Υγρής Χρωματογραφίας

Το οξικό αμμώνιο 2 mM παρασκευάζεται με διάλυση 0.1542 g οξικού αμμώνιου σε 1 L υπερκαθαρού νερού.

6.3.3.4. Διάλυμα Ελέγχου απόκρισης οργάνου

Το διάλυμα ελέγχου απόκρισης του οργάνου παρασκευάζεται με ανάμιξη κατάλληλων ποσοτήτων από τα διαλύματα εργασίας $^{13}C_4$-PFOS κα $^{13}C_4$-PFOA σε συγκέντρωση και ποσότητα που αναγράφεται στον Πίνακα 6-1.

6.3.3.5. Διαλύματα εκχύλισης στερεάς φάσης

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Το διάλυμα 1% φορμικού οξέος παρασκευάζεται με την προσθήκη όγκου ίσου με 1 mL διαλύματος φορμικού οξέος σε 99 mL υπερκάθαρου νερού.

Το διάλυμα 0.1% υδροξείδιο του νατρίου παρασκευάζεται με την προσθήκη όγκου ίσου με 0.4 mL από το διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου 25% σε 99.6 mL μεθανόλης.

6.3.4. Ανθρώπινα δείγματα ούρων - Βιοηθική

Τα εργαστηριακά δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν ως υπόστρωμα-τυφλά δείγματα στην πειραματική διαδικασία και στην επικύρωση της συγκεκριμένης μεθόδου προέρχονται από προηγούμενες μελέτες του Εργαστηρίου Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου και υπήρξε δήλωση συγκατάθεσης από τους δωρητές του βιολογικού υγρού και έγκριση σχετικής επιτροπής του Ινστιτούτου που εξετάζει ζητήματα βιοηθικής.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

7. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Λαμβάνοντας υπόψη την επικινδυνότητα της έκθεσης των ανθρώπων στα PFAS, σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανάπτυξη μίας εξειδικευμένης αναλυτικής μεθόδου προσδιορισμού των κυριότερων ενώσεων PFAS σε ανθρώπινα ούρα. Ο ποσοτικός προσδιορισμός τους βασίζεται στην υγρή χρωματογραφία και στην χρήση φασματογράφου μάζας, μετά από κατάλληλη εκχύλιση και καθαρισμό του δείγματος. Αυτά τα τρία στάδια της ανάλυσης περιγράφονται παρακάτω:

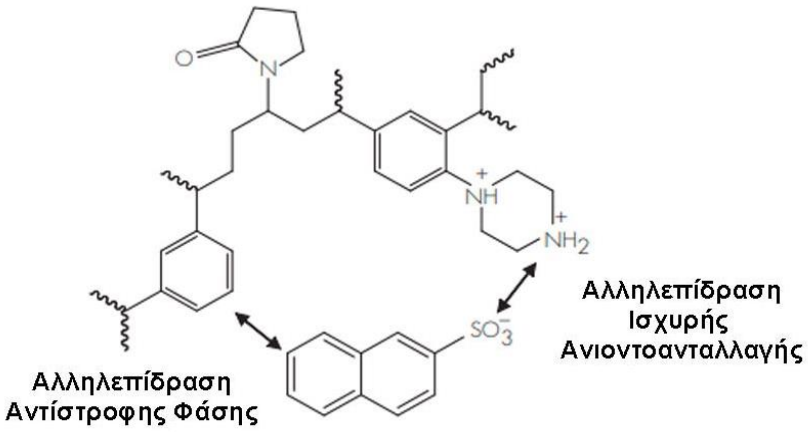
7.1.1. Εκχύλιση και καθαρισμός του δείγματος

Σε πλαστικά σωληνάρια φυγοκέντρισης τύπου Falcon όγκου 15 mL προστίθενται 0.5 mL δείγματος ούρων και 25 μL από 50 ng/mL του μίγματος εσωτερικών επισημασμένων προτύπων MPFAC-MXA (διάλυμα εργασίας) με επαναληπτική αυτόματη πιπέτα. Γίνεται προσθήκη 10 mL διαλύματος 0,1% φορμικού οξέος (formic acid) σε νερό και έπειτα πραγματοποιείται ανάδευση για 1 λεπτό στη συσκευή ανάδευσης (vortex). Στη συνέχεια, το δείγμα μεταφέρεται σε συσκευή με λουτρό υπερήχων για 30 λεπτά, όπου η θερμοκρασία του δεν ξεπερνάει τους 40°C. Το διάλυμα που παραλαμβάνεται μετά το πέρας της διαδικασίας αυτής μεταφέρεται σε φυσίγγιο για την πραγματοποίηση της εκχύλισης.

Στην παρούσα μελέτη, δοκιμάστηκαν διάφορες πειραματικές διαδικασίες και αρκετές διαφορετικά φυσίγγια για τη διαδικασία της εκχύλισης των δειγμάτων ούρων (βλέπε 8.1.5). Έπειτα από σύγκριση των χρωματογραφημάτων και των ανακτήσεων που προέκυψαν η πειραματική διαδικασία που εφαρμόσθηκε στην παρούσα μελέτη περιέχει φυσίγγια OASIS WAX 6 cc, 60 mg 60 μm (weak anion exchange).

Οι στήλες OASIS WAX έχουν μικτού τύπου μηχανισμό κατακράτησης τόσο ιοντοανταλλαγής όσο και αντίστροφης φάσης, ο οποίος είναι κατάλληλος για τη συγκράτηση και έπειτα την έκλουση όξινων ενώσεων με pKa <1.0 [82].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250



Σχήμα 20: Η δομή της στερεάς φάσης των φυσιγγίων OASIS WAX SPE [82].

Αναλυτικότερα, το διάλυμα που περιλαμβάνεται μετά το πέρας της εκχύλισης μεταφέρεται στο φυσίγγιο εκχύλισης στερεάς φάσης που έχει ήδη ενεργοποιηθεί με 4mL μεθανόλης (MeOH), 4mL διαλύματος 0,1% υδροξείδιο του αμμωνίου (NH_4OH) σε μεθανόλη και 4mL υπερκάθαρο νερό. Ακολουθεί έκπλυση του φυσίγγιου με 4 mL υπερκάθαρου νερού και πραγματοποιείται ξήρανση υπό κενό και έκλουση με 4mL μεθανόλης και 4mL διαλύματος 0,1% υδροξείδιο του αμμωνίου (NH_4OH) σε μεθανόλη.

Η ταχύτητα ροής των διαλυτών και του δείγματος στη μικροστήλη είναι 1-2 σταγόνες/δευτερόλεπτο.

Στη συνέχεια, ο διαλύτης από το έκλουσμα εξατμίζεται μέχρι ξηρού σε περιστροφικό εξατμιστήρας κενού στους 35°C και το υπόλειμμα επαναδιαλυτοποιείται σε 675 μL διαλύματος 2 mM οξικού αμμωνίου σε νερό και σε 300 μL ακετονιτριλίου και γίνεται για 30 δευτερόλεπτα ανάδευση με συσκευή περιδίνησης (vortex).

Τέλος, μεταφέρεται σε πλαστικό φιαλίδιο χωρητικότητας 1.5 mL όπου ακριβώς πριν τη χρονική στιγμή εισαγωγής του στη διάταξη οργάνων για την ανάλυση προστίθενται 25 μL των εξωτερικών προτύπων (M8PFOA, M8PFOS) και γίνεται για 30 δευτερόλεπτα ανάδευση με συσκευή περιδίνησης (vortex).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

7.1.2. Μέτρηση σε διάταξη LC-MS/MS

Για την εκπόνηση της μελέτης χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης συζευγμένο με διαδοχική φασματομετρία μαζών (τριπλού τετραπόλου, Shimadzu LCMS-8060 NX, Kyoto, Japan).

Η διάταξη συνοδεύεται με λογισμικό ελέγχου και επεξεργασίας δεδομένων LabSolutions V4.1, Copyright© 2012 Shimadzu Inc.

Για κάθε σειρά ανάλυσης τοποθετούμε στον αυτόματο δειγματολήπτη τα φιαλίδια με την ακόλουθη σειρά: calibration standard 0-15, τυφλό διάλυμα (blank solution), πρότυπα διαλύματα (standard solution), εμβολιασμένο δείγμα (spike sample) και άγνωστα δείγματα (unknown sample) και προγραμματίζουμε τον αυτόματο δειγματολήπτη ώστε να εισάγει τα δείγματα με αυτή τη σειρά.

Η κινητή φάση Α (υδατική) είναι διάλυμα 2 mM οξικό αμμώνιο σε υπερκάθαρο νερό και η Β (οργανική) ακετονιτρίλιο 100%. Κάθε φορά πριν την ανάλυση πραγματοποιείται απαέρωση (purge) από την αντλία με μονάδα απαέρωσης τεσσάρων διαλυτών που υπάρχει στη διάταξη οργάνων. Η έκλουση της στήλης είναι βαθμωτή με αρχική αναλογία 75% v/v Α - 25% v/v Β, αλλάζει σε 0% Α - 100% Β από το 0.1 min έως και το 7 min όπου παραμένει ισοκρατική για 6 min και στη συνέχεια στο 13.1 min επανέρχεται στην αρχική αναλογία μέχρι και το 25 min για να γίνει εξισορρόπηση του συστήματος με τις αρχικές συνθήκες όπως αναγράφεται στον παρακάτω πίνακα:

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 7-1: Συνθήκες έκλουσης Υγρής Χρωματογραφίας.

Χρόνος (min)	Υδατική κινητή φάση Α (%) v/v	Οργανική κινητή φάση Β (%) v/v	Ροή (mL/min)
Αρχική τιμή	75	25	0.17
0.1	75	25	0.17
7.0	0	100	0.17
13.0	0	100	0.17
13.1	75	25	0.17
25.0	75	25	0.17 (Stop)

Η ταχύτητα ροής είναι 0.17 mL/min, ο όγκος έγχυσης του δείγματος είναι ίσος με 20 μL και η θερμοκρασία του θαλάμου θερμοστάτισης της αναλυτικής στήλης έχει οριστεί στους 35° C.

Η αναλυτική στήλη που χρησιμοποιείται στη μέθοδο είναι η στήλη αντίστροφης φάσης Zorbax Eclipse Plus C18 (150 mm x 2.1 mm, 3.5 μm, Agilent). Χρησιμοποιείται επίσης ως «isolator column» η Symmetry C18 (50 mm x 2.1 mm, 5 μm, Waters).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 7-2: Χαρακτηριστικά αναλυτικής στήλης.

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΣΤΗΛΗ	ECLIPSE PLUS C18, ZORBAX AGILENT
Μήκος (L)	150 mm
Εσωτερική Διάμετρος (ID)	2.1 mm
Μέγεθος Σωματιδίων πληρωτικού υλικού	3.5 μm
Μέγεθος Πόρων πληρωτικού υλικού (PD)	95 Å
Επιφάνεια (S)	160 m2/g
Ταχύτητα Ροής (F)	0.17 mL/min

ΟΓΚΟΣ ΠΟΡΩΝ (P_V) : $P_V = \frac{S * PD}{4 * 10^4}$ (cm^3/g)

$P_V = \frac{160 * 95}{4 * 10^4} \rightarrow \mathbf{P_V = 0.38\ mL/g}$

ΝΕΚΡΟΣ ΟΓΚΟΣ (V_M): $V_M = \frac{ID^2 * Pi * L * P_V}{4}$ (μL)

$V_M = \frac{2.1^2 * Pi * 150 * 0.38}{4} \rightarrow \mathbf{V_M = 0.197 mL}$

ΝΕΚΡΟΣ ΧΡΟΝΟΣ (t_0): $t_0 = \frac{V_M}{F}$

$t_0 = \frac{0.197}{0.17} \rightarrow \mathbf{t_0 = 1.16\ min}$

Ο νεκρός χρόνος, δηλαδή ο χρόνος που χρειάζεται μία μη κατακρατούμενη ουσία για να φτάσει στον ανιχνευτή, είναι ίσος με 1.16 min, μικρότερη τιμή από όλους τους χρόνους ανάσχεσης των αναλυτών.

Στον φασματογράφο μάζας συστοιχίας τριών τετράπολων, χρησιμοποιείται ηλεκτροψεκασμός ESI για τον αρνητικό ιονισμό του δείγματος. Οι παράμετροι που εφαρμόστηκαν κατά την ανάλυση των δειγμάτων εμφανίζονται στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 7-2):

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 7-3: Παράμετροι Φασματογράφου Μάζας.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΤΙΜΗ
Ionisation mode	ESI, negative mode
Nebulizing Gas Flow	3 L/min
Heating Gas Flow	15 L/min
Interface Temperature	250°C
Desolvation Temperature	444°C
DL Temperature	250°C
Heat Block Temperature	400°C
Drying Gas Flow	3 L/min
Interface Voltage	-4500 V
Focus Voltage	-2000 V

Οι ιοντικές μεταπτώσεις, οι αντίστοιχες ενέργειες διάσπασης και τα δυναμικά που χρησιμοποιήθηκαν για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των ενώσεων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7-3):

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 7-4: Πληροφορίες οργάνου για κάθε αναλύτη και των εξωτερικών και εσωτερικών προτύπων. Οι μεταπτώσεις με την ένδειξη * είναι οι μεταπτώσεις ποσοτικοποίησης.

Κατηγορία ένωσης	Όνομα ένωσης	Ιοντικές Μεταπτώσεις (m/z)	Ενέργεια Διάσπασης (eV)	Dwell Time (msec)	Q1 Pre Bias (V)	Q3 Pre Bias (V)	Χρόνος Ανάσχεσης (min)	Εσωτερικό Πρότυπο [IS]
PFCAs	PFBA	213.0 -> 213.0 213.0 -> 168.9* 213.0 -> 115.0	8 5 24	60	-10 -10 -11	-11 -15 -22	3.2	$^{13}C_4$-PFBA
	PFPeA	262.8 -> 262.8 263.2 -> 219.0*	10 10	92	-13 -15	-13 -13	6.0	$^{13}C_4$-PFBA
	PFHxA	313.0 -> 269.2* 313.0 -> 118.9	8 18	9	-15 -15	-10 -23	10.0	$^{13}C_2$-PFHxA
	PFHpA	362.9 -> 318.9* 362.9 -> 169.0	8 16	9	-17 -25	-23 -12	10.8	$^{13}C_4$-PFOA
	PFOA	412.9 -> 369.1* 412.9 -> 169.0	9 17	9	-20 -20	-14 -12	11.3	$^{13}C_4$-PFOA
	PFNA	462.9 -> 419.1* 462.9 -> 169.0	10 19	9	-22 -23	-21 -30	11.8	$^{13}C_5$-PFNA
	PFDA	512.9 -> 469.0* 512.9 -> 219.0	11 19	9	-26 -20	-18 -15	12.2	$^{13}C_2$-PFDA
	PFUnDA	562.9 -> 519.0* 562.9 -> 318.9	10 18	9	-26 -20	-28 -22	12.8	$^{13}C_2$-PFUnDA
	PFDoDA	613.0 -> 568.9* 613.0 -> 168.9	11 23	9	-30 -30	-22 -11	13.3	$^{13}C_2$-PFDoDA
	PFTrDA	662.9 -> 619.0* 662.9 -> 169.0 662.9 -> 318.7	12 25 19	5	-32 -24 -24	-24 -30 -21	13.8	$^{13}C_2$-PFDoDA
	PFTeDA	713.0 -> 669.0* 713.0 -> 318.8	13 20	10	-26 -20	-20 -17	14.2	$^{13}C_2$-PFDoDA
PFSAs	L-PFBS	298.9 -> 98.9 298.9 -> 79.9*	34 27	9	-13 -30	-15 -20	10.2	$^{18}O_2$-PFHxS
	L-PFHxS	398.9 -> 98.9 398.9 -> 80.0*	42 32	9	-19 -14	-30 -10	11.0	$^{18}O_2$-PFHxS
	L-PFHpS	448.9 -> 99.0 448.9 -> 80.0*	36 50	9	-21 -21	-30 -10	12.2	$^{18}O_2$-PFHxS
	L-PFOS	498.9 -> 169.0 498.9 -> 99.0* 498.9 -> 80.0	32 40 50	5	-17 -22 -23	-19 -18 -30	12.8	$^{13}C_4$-PFOS
	L-PFDS	598.9 -> 98.9 598.9 -> 79.9*	50 45	9	-20 -28	-18 -15	13.5	$^{18}O_2$-PFHxS

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 7-5: Πληροφορίες του οργάνου για τα εσωτερικά και τα εξωτερικά πρότυπα. Οι μεταπτώσεις με την ένδειξη * είναι οι μεταπτώσεις ποσοτικοποίησης.

Κατηγορία ένωσης	Όνομα ένωσης	Ιοντικές Μεταπτώσεις (m/z)	Ενέργεια Διάσπασης (eV)	Dwell Time (msec)	Q1 Pre Bias (V)	Q3 Pre Bias (V)	Χρόνος Ανάσχεσης (RT)
Labelled-Internal Standard	$^{13}C_4$-PFBA	217.0 -> 172.0* 217.0 -> 58.0	-8 -25	92	-14 -28	-12 -24	3.5
	$^{13}C_2$-PFHxA	315.0 -> 270.0* 315.0 -> 120.0	-8 -17	9	-15 -15	-20 -24	10.1
	$^{13}C_4$-PFOA	416.9 -> 371.9* 416.9 -> 172.0	-9 -17	9	-19 -20	-19 -12	11.5
	$^{13}C_5$-PFNA	468.0 -> 423.0* 468.0 -> 223.0	-9 -15	9	-16 -16	-16 -16	11.8
	$^{13}C_2$-PFDA	515.0 -> 470.0* 515.0 -> 170.0	-10 -19	9	-24 -36	-18 -12	12.3
	$^{13}C_2$-PFUnDA	565.0 -> 520.0* 565.0 -> 320.0	-11 -17	9	-28 -40	-20 -12	12.8
	$^{13}C_2$-PFDoDA	615.0 -> 570.0* 615.0 -> 169.0	-11 -24	9	-22 -28	-22 -12	13.2
	$^{18}O_2$-PFHxS	403.0 -> 84.0* 403.0 -> 103.0	-45 -33	9	-19 -19	-16 -20	11.8
	$^{13}C_4$-PFOS	502.9 -> 80.0* 502.9 -> 99.0	-54 -38	9	-24 -24	-15 -10	12.6
Injection Standard	$^{13}C_8$-PFOA	421.1 -> 375.9*	-10	21	-20	-20	11.2
	$^{13}C_8$-PFOS	506.8 -> 98.8*	-39	21	-24	-18	12.8

Στο πλαίσιο της ανάπτυξης της συγκεκριμένης αναλυτικής μεθόδου, πραγματοποιήθηκε βελτιστοποίηση της ενέργειας διάσπασης (collision energy), των δυναμικών Q1, Q3 Pre Bias για κάθε ιόν ξεχωριστά με βάση την ένταση του σήματος, καθώς και η εύρεση της μητρικής μετάπτωσης κάθε ιόντος. Για να επιτευχθεί η διαδικασία της βελτιστοποίησης έγινε απευθείας έγχυση των προσδιοριζόμενων συστατικών σχετικά μεγάλης συγκέντρωσης στο φασματογράφο μάζας και ρυθμίστηκαν αυτόματα οι παράμετροι της πηγής για κάθε ένα ιόν ξεχωριστά. Αντίστοιχα, έχει βελτιστοποιηθεί και η παράμετρος Dwell Time, όπου αποτελεί τον χρονικό διάστημα που το όργανο συλλέγει δεδομένα για μία συγκεκριμένη μετάπτωση σε κάθε κύκλο.

Οι τιμές που αναγράφονται στους πίνακες 7-4 και 7-5 αποτελούν τις βέλτιστες.

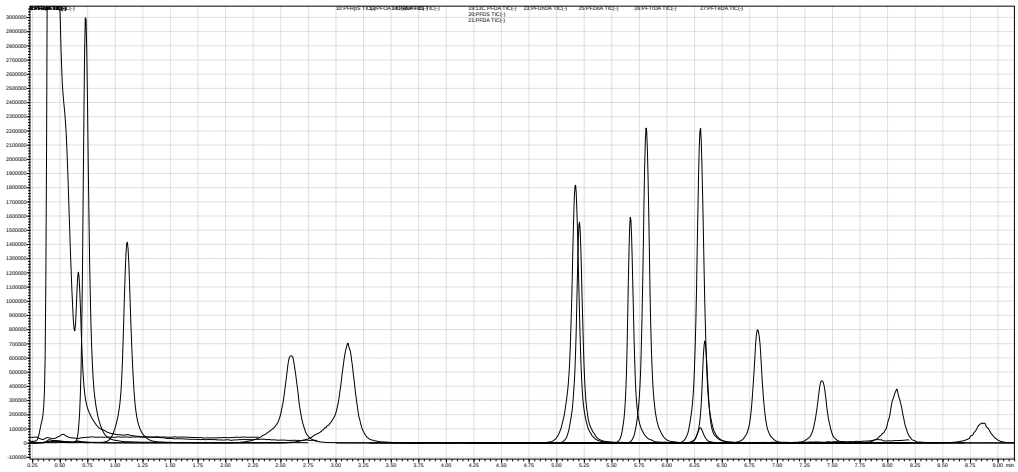
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

8. ΜΕΛΕΤΗ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ PFAS

8.1. Επιλογή στατικής φάσης

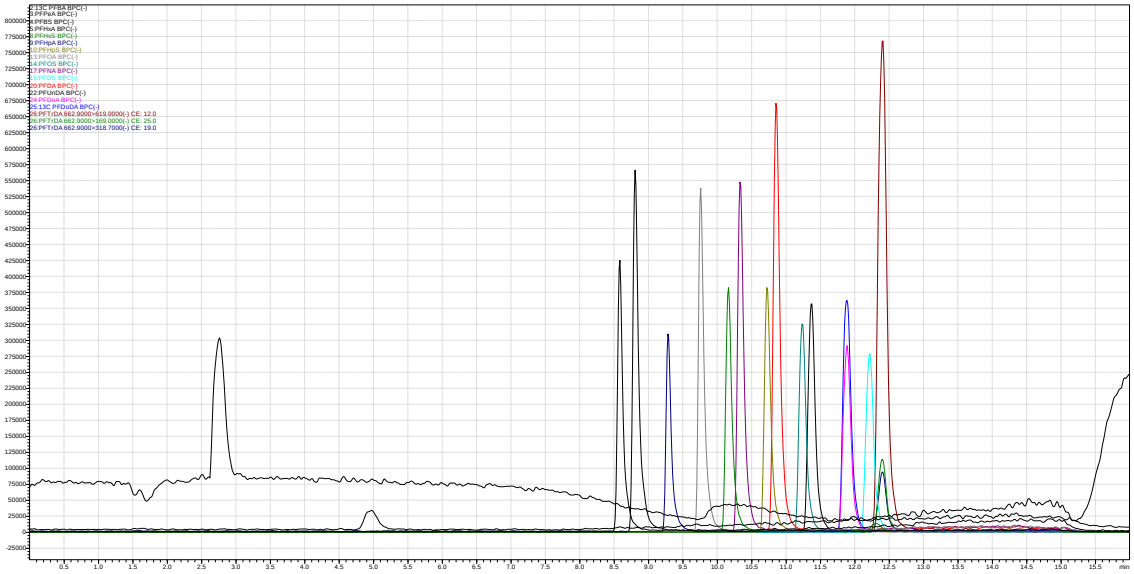
Ο βέλτιστος διαχωρισμός των προσδιοριζόμενων ενώσεων επιτυγχάνεται μέσω της επιλογής του κατάλληλου υλικού πλήρωσης της αναλυτικής στήλης, της κατάλληλης σύστασης της κινητής φάσης και του βέλτιστου προγράμματος έκλουσης.

Αρχικά, έγινε δοκιμή της αναλυτικής στήλης Fluorosep (50 mm x 2.1 mm, 5 μm, Waters), η οποία διαχώριζε τους αναλύτες δίνοντας πολύ καλή χρωματογραφική εικόνα, εκτός από τα μικρά, πολικά μόρια PFBA, 13CPFBA και PFPeA. Οι συγκεκριμένες ενώσεις είχαν χρόνο ανάκτησης 0,4 έως 3 min και δεν διαχωρίζονταν πλήρως από το υπόστρωμα ούρων. Επίσης, ο «νεκρός χρόνος» της συγκεκριμένης στήλης υπολογίστηκε ίσος με 0,4 min. Για τους παραπάνω λόγους η συγκεκριμένη αναλυτική στήλη απορρίφθηκε.



Στη συνέχεια, εφαρμόστηκε η αναλυτική στήλη Zorbax C18 Plus (150 mm x 2.1 mm, 3.5 μm, Agilent), η οποία επιτύγχανε πλήρη διαχωρισμό όλων των αναλυτών μεταξύ τους και από το υπόστρωμα. Λόγω του μεγαλύτερου μήκους της, διαπιστώθηκε ότι χρειάζεται περισσότερος όγκος κινητής φάσης, άρα και περισσότερο χρόνο ολοκλήρωσης της κάθε ανάλυσης για να γίνει ορθή εξισορρόπηση του οργάνου.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250



8.2. Επιλογή κινητής φάσης

Σε κάθε πρόγραμμα έκλουσης δοκιμάστηκε ως οργανική κινητή φάση το ακετονιτρίλιο και η μεθανόλη αντίστοιχα, όπου διαπιστώθηκε ότι η μεθανόλη έδινε περισσότερες κορυφές με μη ικανοποιητική χρωματογραφική συμπεριφορά και περισσότερο «θόρυβο» στη χρωματογραφία και για αυτόν τον λόγο επιλέχθηκε το ακετονιτρίλιο ως (Β) οργανική κινητή φάση.

Όσον αφορά την υδατική κινητή φάση δοκιμάστηκαν διαλύματα υπερκάθαρου νερού με διάφορες συγκεντρώσεις αλάτων οξικού αμμωνίου και φορμικού αμμωνίου αντίστοιχα.

Διαπιστώθηκε ότι η κινητή φάση που περιείχε το οξικό αμμώνιο παρείχε καλύτερες κορυφές χωρίς ωστόσο να υπάρχει σημαντική διαφορά ανάμεσα στα χρωματογραφήματα των δύο διαφορετικών κινητών φάσεων με τα διαφορετικά άλατα.

Η αλλαγή που διαφοροποίησε το τελικό αποτέλεσμα είναι η συγκέντρωση του άλατος. Αναλυτικότερα, δοκιμάστηκε πρόγραμμα έκλουσης με υδατική φάση 10 mM, 5 mM και 2 mM οξικό αμμώνιο αντίστοιχα ενώ δοκιμάστηκε σε κάθε περίπτωση η προσαρμογή του pH με μικρό όγκο οξικού οξέος (περίπου ίσο με 0,1%) ώστε να είναι ίσο με pH= 4-4,5 [83].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Στις δοκιμές αυτές διαπιστώθηκε ότι ο καλύτερος χρωματογραφικός διαχωρισμός επιτυγχανόταν στη χρωματογραφία, με συγκέντρωση 2 mM οξικό αμμώνιο και pH ίσο με 5 (χωρίς να εισαχθεί οξικό οξύ).

8.3. Βελτιστοποίηση προγράμματος βαθμωτής έκλουσης

Αντίστοιχα, η επιλογή του κατάλληλου συστήματος έκλουσης αποτελεί θεμελιώδης σημασίας παράμετρο στην ανάπτυξη μίας αναλυτικής μεθόδου. Στον Πίνακα 8-1 αναγράφονται τα διάφορα συστήματα που δοκιμάστηκαν αφότου επιλέχθηκε ως κινητή φάση ο συνδυασμός A: 2 mM ammonium acetate/H2O, B: ACN προκειμένου να βρεθεί το καταλληλότερο για το διαχωρισμό όλων των ενώσεων PFAS.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 8-1: Προγράμματα βαθμωτής έκλουσης που δοκιμάστηκαν κατά την ανάπτυξη της μεθόδου.

α/α	Πρόγραμμα Βαθμωτής Έκλουσης (%)	Αναλυτική Στήλη/ Ροή	Παρατηρήσεις
1	**0.0 min:** A:75-B:25 **0.1 min:** A:75-B:25 **6.0 min:** A:0-B:100 **8.5 min:** A:0-B:100 **8.6 min:** A:75 B:25 **16.0 min:** A:75-B:25	Fluorosep – 0.3mL/min	• Όχι καλή χρωματογραφική εικόνα του PFOS & • Μη διαχωρισμός PFBA, 13CPFBA, PFPeA σε σχέση με το υπόστρωμα
2	**0.0 min:** A:75-B:25 **0.1 min:** A:75-B:25 **6.0 min:** A:0-B:100 **8.5 min:** A:0-B:100 **8.6 min:** A:75-B:25 **16.0 min:** A:75-B:25	Fluorosep – 0.3mL/min	• Καλή χρωματογραφία για το PFOA. • Μη διαχωρισμός PFBA, 13CPFBA, PFPeA σε σχέση με το υπόστρωμα
3	**0.0 min:** A:95-B:5 **0.5 min:** A:95-B:5 **2.5 min:** A:0-B:100 **7.0 min:** A:0-B:100 **7.1 min:** A:95-B:5 **13 min:** A:95-B:5	Fluorosep – 0.3mL/min	• Διαχωρισμός 13CPFBA, PFPeA σε σχέση με το υπόστρωμα • Μη διαχωρισμός PFBA • Λιγότερο καλή χρωματογραφική εικόνα για τους υπόλοιπους αναλύτες.
4	**0.0 min:** A:75-B:25 **0.1 min:** A:75-B:25 **7.0 min:** A:0-B:100 **13.0 min:** A:0-B:100 **13.1 min:** A:75-B:25 **20.0 min:** A:75-B:25	Zorbax C18 Plus – 0.17 mL/min	• Πλήρης διαχωρισμός όλων των αναλυτών της μεθόδου • Διαφοροποιήσεις στον χρόνο ανάσχεσης σε κάθε ανάλυση.
5[1]	**0.0 min:** A:75-B:25 **0.1 min:** A:75-B:25 **7.0 min:** A:0-B:100 **13.0 min:** A:0-B:100 **13.1 min:** A:75-B:25 **20.0 min:** A:75-B:25	Zorbax C18 Plus – 0.17 mL/min	• Πλήρης διαχωρισμός όλων των αναλυτών της μεθόδου • Σταθεροί χρόνοι ανάσχεσης σε κάθε ανάλυση.

[1] Αποτελεί το πρόγραμμα βαθμωτής έκλουσης που εφαρμόσθηκε στην παρούσα μελέτη.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

8.4. Βελτιστοποίηση παραμέτρων ανίχνευσης στη φασματομετρία μάζας

Στα πλαίσια βελτιστοποίησης των παραμέτρων του φασματογράφου μάζας παρατηρήθηκε ότι:

Όταν η παράμετρος **Θερμοκρασία Διεπαφής** (**Interface Temperature)** είναι ίση με τιμές >250° C (εφαρμόσθηκαν οι τιμές 250, 300, 350, 400° C) τότε αυξάνεται η ευαισθησία των ενώσεων PFSAs αλλά μειώνεται η ευαισθησία των PFCAs. Αντίθετα, όταν είναι ίση με τιμές < 250° C (εφαρμόσθηκαν οι τιμές 250, 200, 150, 100° C) παρατηρείται ακριβώς το αντίστροφο αποτέλεσμα.

Βέλτιστη τιμή θερμοκρασίας διεπαφής για τις ενώσεις PFSAs βρέθηκε η τιμή ίση με 350° C, ενώ για τις ενώσεις PFCAs η τιμή 150° C αντίστοιχα.

Στη συγκεκριμένη μελέτη, έχοντας ως προτεραιότητα τη δημιουργία μίας μεθόδου ανάλυσης για όλες τις ενώσεις, ορίστηκε η τιμή της παραμέτρου ίση με 250° C, όπου λαμβάνεται ικανοποιητικό σήμα για όλους τους αναλύτες.

Επίσης, όσον αφορά την παράμετρο της **Ροής του Αερίου Εκνέφωσης (Nebulizer Gas Flow)**, δοκιμάστηκαν οι τιμές 0.5, 1, 1.5 και 3 με βέλτιστο το 3 L/min.

Όσον αφορά τον **Όγκος Έγχυσης (Injection Volume)** δοκιμάστηκαν όγκοι έγχυσης 10, 20, 25 μL όπου, τα 20 μL έδιναν καλύτερο σήμα σε σχέση τα 10 μL, ενώ τα 25 μL έδιναν παραπλήσιο σήμα με τα 20 μL, οπότε ορίστηκαν τα 20 μL ως τελική τιμή της μεθόδου συνυπολογίζοντας τη βέλτιστη πρακτική και για την προστασία και συντήρηση του οργάνου.

Όσον αφορά την τιμή του **Δυναμικού Εστίασης** (**Focus Voltage)**, δοκιμάστηκαν οι τιμές -2 kV, -3 kV και -4 kV, όπου στο -4 kV παρατηρήθηκε αύξηση της ευαισθησίας των μεγαλύτερων μοριακών βαρών ενώσεων (PFOA έως PFTeDa) καθώς και των ισοτόπων τους. Αντίθετα, στα -2 kV μειώνεται ελάχιστα το σήμα των μεγάλων αυτών ενώσεων αλλά αυξάνεται αυτό των μικρών ενώσεων (PFBA-PFHpA), οι οποίες σε γενικές γραμμές έχουν λιγότερη ευαισθησία και είναι πιο

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

σημαντικά ευρήματα στην παρούσα μελέτη λόγω του υποστρώματος που εξετάζεται και για αυτό επιλέχθηκε το -2 kV ως κατάλληλη τιμή της συγκεκριμένης παραμέτρου.

8.5. Βελτιστοποίηση συνθηκών εκχύλισης στερεάς φάσης

Στην παρούσα μελέτη, δοκιμάστηκαν διάφορες πειραματικές διαδικασίες για τον καθαρισμό και την εκχύλιση των δειγμάτων ούρων με φυσίγγια εκχύλισης στερεάς φάσης διάφορων τύπων όπως φωσφολιπιδίων, υδρόφιλων πολυμερών και ασθενούς ανταλλαγής ανιόντων.

Πειραματικό πρωτόκολλο 1 (ΠΠ1)

Αρχικά, εφαρμόσθηκε πειραματική διαδικασία βασισμένη στη μελέτη [84] με φυσίγγια εκχύλισης στερεάς φάσης (Hybrid SPE-Phospholipid, Supelco), 1mL 30 mg/mL. Πρόκειται για εξειδικευμένο φυσίγγιο εκχύλισης στερεάς φάσης, το οποίο επιτυγχάνει ταυτόχρονη απομάκρυνση πρωτεϊνών και φωσφολιπιδίων από βιολογικά δείγματα.

Πειραματικό πρωτόκολλο 2 (ΠΠ2)

Στη συνέχεια, δοκιμάστηκαν πειραματικές διαδικασίες, βασισμένες στις μελέτες [85], [86] χρησιμοποιώντας φυσίγγιο εκχύλισης στερεάς Evolute Express ABN, 6 mg, 3 mL. Το πληρωτικό του υλικό επιτυγχάνει έναν συνδυασμό πολικών (υδρόφιλων) και μη πολικών (υδρόφοβων) αλληλεπιδράσεων και επιτρέπει την αποτελεσματική εξαγωγή αναλυτών μεγάλης πολικότητας.

Πειραματικό πρωτόκολλο 3 (ΠΠ3)

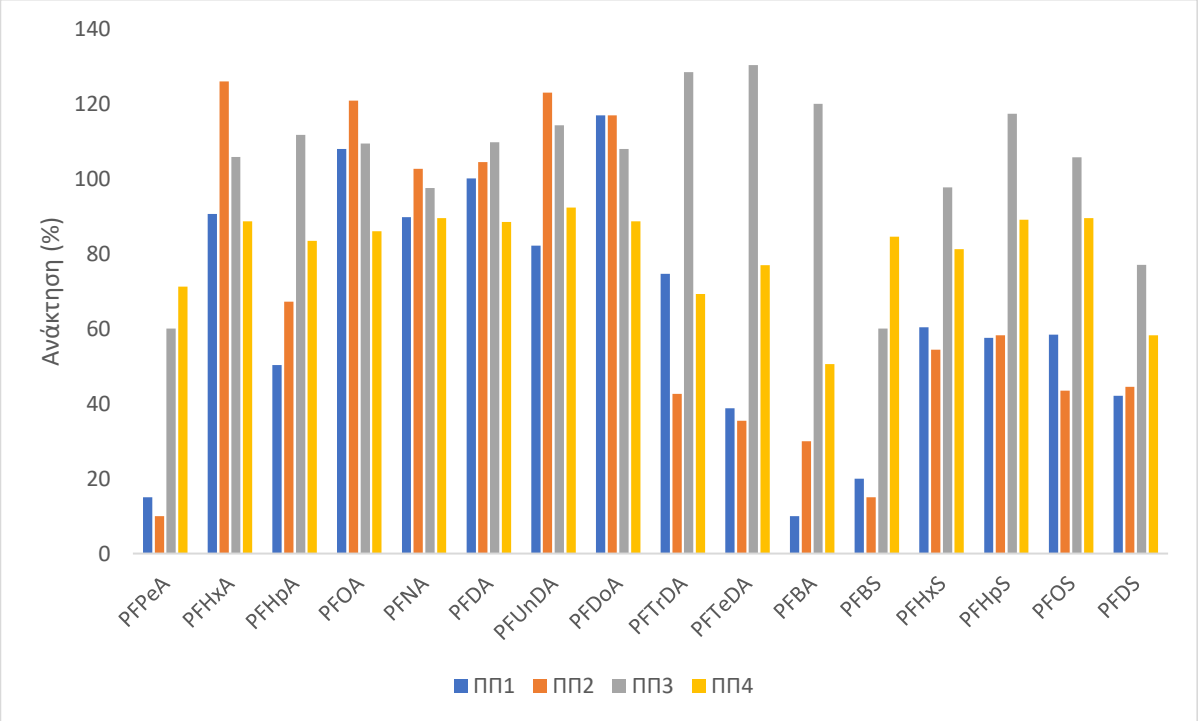
Επίσης, έγινε εφαρμογή πρωτόκολλου χρησιμοποιώντας φυσίγγια εκχύλισης στερεάς φάσης (CHROMABOND® PFAS, 6 mL, 300 mg), τα οποία αποτελούν εξειδικευμένα φυσίγγια για την απομόνωση των PFAS από υδατικά δείγματα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πειραματικό πρωτόκολλο 4 (ΠΠ4)

Έπειτα από σύγκριση των χρωματογραφημάτων και των ανακτήσεων που προέκυψαν η πειραματική διαδικασία που εφαρμόσθηκε στην παρούσα μελέτη είναι ο καθαρισμός με φυσίγγιο εκχύλισης στερεάς φάσης OASIS WAX 6cc, 60mg 60μm (weak anion exchange).

Τέλος, στην τελική πειραματική διαδικασία που επιλέχθηκε, έγιναν δοκιμές επιπλέον βημάτων καθαρισμού τόσο με φυσίγγια εκχύλισης στερεάς φάσης αντίστροφης φάσης C18 (CHROMABOND C18 Hydra, 45 μm, 3 mL/200 mg) όσο και με σκόνη ενεργοποιημένου άνθρακα SPE Bulk Sorbent ,Agilent και Chromabond, Sorbent C18. Στις δοκιμές αυτές διαπιστώθηκε ότι το φυσίγγιο C18 δέσμευσε ποσότητα των PFAS, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο τις τελικές ανακτήσεις, ενώ τα σκευάσματα άνθρακα δε βελτίωσαν τη χρωματογραφική εικόνα.



Σχήμα 21: Ραβδόγραμμα ανακτήσεων σε συγκέντρωση 0.5 ng/mL για κάθε αναλύτη, μετά από εφαρμογή των υπό δοκιμή πρωτοκόλλων σε υπόστρωμα ούρων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 8-2: Οι ανακτήσεις των αναλυτών σε επίπεδο 5 ng/mL συγκέντρωσης κατά την εφαρμογή των πειραματικών πρωτόκολλων (ΠΠ) σε υπόστρωμα ούρων, n=3[2] , εύρος RSD%[3]: 0,3 – 11%.

ΑΝΑΚΤΗΣΗ (%)				
ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΑΝΑΛΥΤΗ	**ΠΠ1**	**ΠΠ2**	**ΠΠ3**	**ΠΠ4[4]**
PFPeA	25	33	60	**71**
PFHxA	91	126	106	**89**
PFHpA	50	67	112	**83**
PFOA	108	121	109	**86**
PFNA	90	103	98	**89**
PFDA	100	104	110	**88**
PFUnDA	82	123	114	**92**
PFDoA	117	117	108	**89**
PFTrDA	75	43	128	**70**
PFTeDA	39	35	130	**77**
PFBA	10	30	120	**55**
PFBS	20	15	60	**85**
PFHxS	60	54	98	**81**
PFHpS	58	58	117	**89**
PFOS	58	43	106	**90**
PFDS	42	45	77	**60**

[2] n: αριθμός επαναλήψεων.
[3] RSD%: Relative Standard Deviation (Σχετική Τυπική Απόκλιση).
[4] Ορίστηκε ως το Πειραματικό Πρωτόκολλο της παρούσας εργασίας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

9. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗΣ

9.1.1. Αξιολόγηση Γραμμικότητας της καμπύλης βαθμονόμησης

Η κατασκευή καμπυλών αναφοράς από πρότυπα διαλύματα μιγμάτων των προσδιοριζόμενων συστατικών αποτελεί βασικό στάδιο της επικύρωσης της μεθόδου. Από τις μετρήσεις των εμβαδών για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις, προκύπτει μια εξίσωση παλινδρόμησης της μορφής y= ax + b, με y να είναι το εμβαδόν της κορυφής της κάθε ουσίας του χρωματογραφήματος, x η συγκέντρωση του συστατικού σε ng/mL, a η κλίση της ευθείας και b η τεταγμένη επί την αρχή. που χαρακτηρίζεται από μια τιμή R^2 που δηλώνει τη γραμμικότητά της.

Η εξίσωση περιγράφει τη μεταξύ της συγκέντρωσης του αναλύτη στόχου (x) στο εκάστοτε διάλυμα και του λόγου των εμβαδών των κορυφών του αναλύτη στόχου προς του χρησιμοποιούμενου εσωτερικού προτύπου.

Παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα με μείγμα των ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις και πραγματοποιήθηκαν τρεις (3) μετρήσεις. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε ένα λευκό δείγμα, ένα μηδενικό δείγμα (λευκό δείγμα με εσωτερικά πρότυπα) και διαλύματα βαθμονόμησης σε έξι (6) επίπεδα συγκεντρώσεων: 0,01 ng/mL, 0,02 ng/mL, 0,05 ng/mL, 1,0 ng/mL, 2,0 ng/mL και 5,0 ng/mL. Επιπλέον υπολογίστηκαν οι τυπικές αποκλίσεις της τομής a με τον άξονα των τετμημένων και της κλίσης b της ευθείας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 9-1: Εξισώσεις παλινδρόμησης των αναλυτών.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΕΣΩΤΕΡΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ	ΕΞΙΣΩΣΗ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣΗΣ	R^2
MIX 1: ACIDS	**PFBA**	13CPFBA	y = 0,4341x + 0,0181	**0,996**
	PFPeA	13CPFBA	y = 0,1455x + 0,0022	**0,994**
	PFHxA	13C PFHxA	y = 0,4705x - 0,0022	**0,992**
	PFHpA	13CPFOA	y = 0,2928x - 0,0005	**0,999**
	PFOA	13CPFOA	y = 0,5034x + 0,0057	**0,998**
	PFNA	13CPFNA	y = 0,6203x + 0,0033	**0,998**
	PFDA	13CPFDA	y = 0,7046x - 0,0012	**0,995**
	PFUnDA	13CPFUNDA	y = 0,3131x - 0,0003	**0,999**
	PFDoA	13CPFDODA	y = 0,4634x - 0,0013	**0,997**
	PFTrDA	13CPFDODA	y = 1,0507x - 0,0048	**1,000**
	PFTeDA	13CPFDODA	y = 0,6555x - 0,0003	**0,996**
MIX 2: SULFO	**PFBS**	18OPFHxS	y = 1,1451x - 0,0115	**0,998**
	PFHxS	18OPFHxS	y = 0,735x - 7E-05	**0,999**
	PFHpS	18OPFHxS	y = 0,7211x - 0,0031	**0,998**
	PFOS	13CPFOS	y = 0,3185x + 0.0005	**0.999**
	PFDS	18OPFHxS	y = 0.4817x - 0.0022	**0.997**

9.1.2. Προσδιορισμός ορίων

Το κατώτερο όριο ποσοτικοποίησης (LLOQ) καθώς και το κατώτερο όριο ανίχνευσης (LOD) υπολογίστηκαν για κάθε αναλύτη μέσω των εξισώσεων:

$$\boldsymbol{LOD = 3,3\ x\ \frac{S_a}{b}}$$

$$\boldsymbol{LLOQ = 10\ x\ \frac{S_a}{b}}$$

,όπου b η κλίση της καμπύλης βαθμονόμησης και S_a η τυπική απόκλιση της εκτίμησης της τετμημένης a.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 9-2: Υπολογισμός LOD και LLOQ

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΕΣΩΤΕΡΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ	b	S_a	LOD (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)
MIX 1: ACIDS	**PFBA**	13CPFBA	0,4341	0,110	**0,83**	**2,53**
	PFPeA	13CPFBA	0,1455	0,005	**0,11**	**0,34**
	PFHxA	13C PFHxA	0,4705	0,009	**0,06**	**0,19**
	PFHpA	13CPFOA	0,2928	0,005	**0,05**	**0,16**
	PFOA	13CPFOA	0,5034	0,008	**0,06**	**0,17**
	PFNA	13CPFNA	0,6203	0,013	**0,07**	**0,21**
	PFDA	13CPFDA	0,7046	0,010	**0,05**	**0,14**
	PFUnDA	13CPFUNDA	0,3131	0,003	**0,04**	**0,11**
	PFDoA	13CPFDODA	0,4634	0,005	**0,04**	**0,11**
	PFTrDA	13CPFDODA	1,0507	0,003	**0,01**	**0,03**
	PFTeDA	13CPFDODA	0,6555	0,009	**0,04**	**0,13**
MIX 2: SULFO	**PFBS**	18OPFHxS	1,1451	0,011	**0,03**	**0,09**
	PFHxS	18OPFHxS	0,7350	0,009	**0,04**	**0,12**
	PFHpS	18OPFHxS	0,7211	0,008	**0,03**	**0,10**
	PFOS	13CPFOS	0.3185	0.003	**0.03**	**0.08**
	PFDS	18OPFHxS	0.4817	0.005	**0.04**	**0.11**

9.1.3. Αξιολόγηση εκλεκτικότητας

Λευκά δείγματα από 3 διαφορετικές πηγές ελέγχθηκαν για την παρουσία παρεμποδίσεων, εξετάζοντας την απόκριση του ανιχνευτή στους χρόνους έκλουσης των ενώσεων. Από την εικόνα των χρωματογραφημάτων προκύπτει ότι η απόκριση σε σχέση με εκείνη του LLOQ είναι μικρότερη του 20% σε σχέση με την τιμή του κατώτερου ορίου ποσοτικοποίησης (LLOQ) του κάθε αναλύτη, όπως ορίζεται από την οδηγία του ICH.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Πίνακας 9-3: Στατιστικά δεδομένα εκλεκτικότητας για τους αναλύτες σε υπόστρωμα ούρων.

ΟΝΟΜΑΣΙΑ	LLOQ (ng/mL)	ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ
PFBA	**2,5**	18%
PFPeA	**0,3**	20%
PFHxA	**0,2**	18%
PFHpA	**0,2**	20%
PFOA	**0,2**	20%
PFNA	**0,2**	9%
PFDA	**0,1**	4%
PFUnDA	**0,1**	8%
PFDoA	**0,1**	7%
PFTrDA	**0,03**	8%
PFTeDA	**0,1**	5%
PFBS	**0,1**	14%
PFHxS	**0,1**	20%
PFHpS	**0,1**	12%
PFOS	**0,1**	7%
PFDS	**0,1**	6%

9.1.4. Αξιολόγηση μόλυνσης εκ μεταφοράς

Κατά την άμεση έγχυση λευκών δειγμάτων έπειτα από την ολοκλήρωση της ανάλυσης διαλύματος ελέγχου συγκέντρωσης ίσης με 500 ng/mL η απόκριση του οργάνου για όλους τους αναλύτες δεν ξεπέρασε το 20% του LLOQ του κάθε αναλύτη, όπως ορίζει το ICH.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

9.1.5. Αξιολόγηση ανάκτησης

Πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις σε δείγματα ελέγχου τριών (3) συγκεντρώσεων και προέκυψαν οι παρακάτω ανακτήσεις:

Πίνακας 9-4: Στατιστικά δεδομένα ανακτήσεων σε τρία (3) επίπεδα συγκεντρώσεων σε υπόστρωμα ούρων, εύρος RSD%: 2-39, n=3.

ΑΝΑΚΤΗΣΗ (%)			
ΟΝΟΜΑΣΙΑ	**0.5 ng/mL**	**5 ng/mL**	**50 ng/mL**
PFBA	66	71	107
PFPeA	69	89	120
PFHxA	74	83	96
PFHpA	66	86	109
PFOA	69	89	105
PFNA	61	88	104
PFDA	71	92	107
PFUnDA	71	89	112
PFDoA	63	70	112
PFTrDA	71	77	92
PFTeDA	45	55	163
PFBS	80	85	113
PFHxS	79	81	122
PFHpS	74	89	105
PFOS	87	90	100
PFDS	55	60	66

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

10. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η επιστήμη της Τοξικολογίας καλείται να ερευνήσει τις δυσμενείς επιπτώσεις των δυνητικά επικίνδυνων ουσιών και μιγμάτων στους έμβιους οργανισμούς και να εκτιμά τον κίνδυνο αυτών. Παρόλα αυτά στην εποχή μας το έργο της αποτελεί μία πρόκληση καθώς οι έμβιοι οργανισμοί εκτίθενται καθημερινά σε πληθώρες χημικές ουσίες, στις οποίες εμπεριέχονται και οι συνθετικές και εμμένουσες υπερφθοριωμένες και πολυφθοριωμένες αλκυλιωμένες ουσίες (PFAS).

Στην παρούσα μελέτη περιγράφεται η ανάπτυξη, η βελτιστοποίηση και η επικύρωση μίας αναλυτικής μεθόδου προσδιορισμού 17 ουσιών που υπάγονται στην ομάδα των PFAS. Πιο συγκεκριμένα, 11 υπερφθοροαλκυλικά καρβοξυλικά οξέα (PFCA) και 6 υπερφθοροαλκυλικά θειώδη οξέα (PFSA). Ο προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε σε υπόστρωμα ούρων.

Για την απομόνωση των PFAS από το βιολογικό υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της εκχύλισης στερεάς φάσης. Ο προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας συζευγμένη με διαδοχική φασματομετρία μάζας (LC-MS/MS). Κατά την ανάπτυξη και τη βελτιστοποίηση της αναλυτικής μεθόδου πραγματοποιήθηκαν αρκετά πρωτόκολλα προκατεργασίας των δειγμάτων και μελετήθηκαν οι παράμετροι της ενόργανης χημικής ανάλυσης με στόχο την εύρεση των βέλτιστων συνθηκών συνδυαστικά για όλους τους αναλύτες-στόχους συγχρόνως. Τέλος, η μέθοδος επικυρώθηκε σύμφωνα με τις απαιτήσεις διεθνών οδηγιών.

Τα συμπεράσματα που εξήχθησαν κατά την ανάπτυξη της μεθόδου μπορούν να συνοψιστούν ως εξής:

Κατά τη χρωματογραφική μέθοδο αντίστροφης φάσης με πρόγραμμα βαθμωτής έκλουσης επιτυγχάνεται πλήρης και ταυτόχρονος διαχωρισμός όλων των αναλυτών στόχων σε διάρκεια 25 λεπτών.

Η απόδοση του συστήματος και η αξιοπιστία του κρίνεται ικανοποιητική ως προς τα κριτήρια που ελέγχθηκαν κατά την επικύρωση της μεθόδου (γραμμικότητα,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

εύρος καμπύλης βαθμονόμησης, όρια ποσοτικοποίησης και ανίχνευσης, ανακτήσεις εκχύλισης, εκλεκτικότητα και μόλυνση εκ μεταφοράς).

Επιπρόσθετα, κατά τη διαδικασία βελτιστοποίησης της αναλυτικής μεθόδου, έγινε εφαρμογή αρκετών πρωτόκολλων προκατεργασίας και καθαρισμού των δειγμάτων και έχει πραγματοποιηθεί σύγκριση αυτών. Αντίστοιχα, όσον αφορά τη βελτιστοποίηση των παραμέτρων που αφορούν τη διάταξη των οργάνων έχουν μελετηθεί οι κυριότερες αυτών.

Συνολικά, τέτοιου είδους πολυδύναμες μέθοδοι αποτελούν σημαντικό εργαλείο για τη βιοπαρακολούθηση, με στόχο την ανθρώπινη υγεία.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

[1] Γ. Θεοδωρίδης, Σ. Γηρούση, Γ. Ζαχαριάδης, Α. Ζώτου, and Β. Σαμανίδου, *Βιοαναλυτική χημεία*. Κάλλιπος, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις, 2015.

[2] WHO Regional Office for Europe, “Human biomonitoring: facts and figures,” Copenhagen, 2015.

[3] J. Angerer, U. Ewers, and M. Wilhelm, “Human biomonitoring: state of the art,” *Int. J. Hyg. Environ. Health*, vol. 210, no. 3–4, pp. 201–228, May 2007, doi: 10.1016/j.ijheh.2007.01.024.

[4] S. R. Mikkelsen and E. Corton, *Bioanalytical Chemistry*, Second., vol. 383, no.7–8. USA: John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2005.

[5] J. K. Steehler, “Bioanalytical Chemistry (Susan R. Mikkelsen and Eduardo Cortón),” *J. Chem. Educ.*, vol. 81, no. 9, p. 1270, Sep. 2004, doi: 10.1021/ed081p1270.

[6] J. Buekers *et al.*, “Development of Policy Relevant Human Biomonitoring Indicators for Chemical Exposure in the European Population.,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 15, no. 10, Sep. 2018, doi: 10.3390/ijerph15102085.

[7] P. Weise, P. Apel, and M. Kolossa-Gehring, “[Human Biomonitoring for Europe (HBM4EU)-first insights into the results of the initiative].,” *Bundesgesundheitsblatt. Gesundheitsforschung. Gesundheitsschutz*, vol. 65, no. 9, pp. 936–939, Sep. 2022, doi: 10.1007/s00103-022-03578-z.

[8] “HBM4EU.” https://www.hbm4eu.eu/.

[9] M. A. Dorato and J. A. Engelhardt, “The no-observed-adverse-effect-level in drug safety evaluations: Use, issues, and definition(s),” *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 42, no. 3, pp. 265–274, 2005, doi: https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2005.05.004.

[10] Χ. Νέπκα, “Preclinical and Regulatory studies in toxicology An Introduction,” Λάρισα, 2021.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

[11] National Academies of Sciences Engineering and Medicine, *Guidance on PFAS Exposure, Testing, and Clinical Follow-Up*. Washington, DC: The National Academies Press, 2022.

[12] Κ. Π. Ε. Λαυρίου, "' Η αξιοποίηση της τεχνογνωσίας κατά την αρχαιότητα συνέβαλε στην ορθή διαχείριση του νερού ;,'" 2013.

[13] Π. Καρκαλούσος *et al.*, *Εργαστηριακές ασκήσεις κλινικής χημείας [Εργαστηριακός Οδηγός*. Κάλλιπος, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις, 2017.

[14] Πέτρος Καρκαλούσος, "Σημειώσεις του μαθήματος: Ανάλυση βιολογικών υγρών και εκκριμάτων," Αθήνα, 2015.

[15] Judagh, "URINE: WHAT A URINANLYSIS TEST SAYS ABOUT YOUR HEALTH," 2017. https://putnamridge.com/urine-tells-health/.

[16] A. Ojo-Okunola, M. Nicol, and E. du Toit, "Human Breast Milk Bacteriome in Health and Disease.," *Nutrients*, vol. 10, no. 11, Nov. 2018, doi: 10.3390/nu10111643.

[17] J. Pirone, "An Overview of SAMHSA's New Oral Fluid Testing Guidelines," 2020.

[18] Ν. Θωμαΐδης, "Φασματομετρία Μαζών," in *Σύγχρονες Αναλυτικές Τεχνικές*, Εθνικόν και Καποδιστριακόν Πανεπιστήμιον Αθηνών.

[19] World Health Organization, "Food safety: Persistent organic pollutants (POPs)," Oct. 02, 2020. .

[20] R. C. Buck *et al.*, "Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: terminology, classification, and origins.," *Integr. Environ. Assess. Manag.*, vol. 7, no. 4, pp. 513–541, Oct. 2011, doi: 10.1002/ieam.258.

[21] OECD, "Reconciling Terminology of the Universe of Per- and Polyfluoroalkyl Substances: Recommendations and Practical Guidance," in *OECD Series on Risk Management*, vol. No. 61, Paris: OECD Publishing, 2021.

[22] "ECHA - European Chemicals Agency." https://echa.europa.eu/.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

[23] E. M. Sunderland, X. C. Hu, C. Dassuncao, A. K. Tokranov, C. C. Wagner, and J. G. Allen, “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.*, vol. 29, no. 2, pp. 131–147, Mar. 2019, doi: 10.1038/s41370-018-0094-1.

[24] F. Heydebreck, J. Tang, Z. Xie, and R. Ebinghaus, “Alternative and Legacy Perfluoroalkyl Substances: Differences between European and Chinese River/Estuary Systems,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 49, no. 14, pp. 8386–8395, Jul. 2015, doi: 10.1021/acs.est.5b01648.

[25] OECD/UNEP Global PFC Group, *Synthesis paper on per- and polyfluorinated chemicals (PFCs)*. Paris, 2013.

[26] Swedish Chemicals Agency, “Occurrence and use of highly fluorinated substances and alternatives. Report from a government assignment,” 2015.

[27] European Commission, “Commission Staff Working Document Poly- and perfluoroalkyl substances (PFAS),” 2020.

[28] J. Koponen *et al.*, “Longitudinal trends of per- and polyfluoroalkyl substances in children’s serum,” *Environ. Int.*, vol. 121, pp. 591–599, Dec. 2018, doi: 10.1016/J.ENVINT.2018.09.006.

[29] J. N. Meegoda, J. A. Kewalramani, B. Li, and R. W. Marsh, “A Review of the Applications, Environmental Release, and Remediation Technologies of Per- and Polyfluoroalkyl Substances.,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 17, no. 21, Nov. 2020, doi: 10.3390/ijerph17218117.

[30] T. M. H. Nguyen *et al.*, “Influences of Chemical Properties, Soil Properties, and Solution pH on Soil–Water Partitioning Coefficients of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs),” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 54, no. 24, pp. 15883–15892, Dec. 2020, doi: 10.1021/acs.est.0c05705.

[31] ITRC, “Physical and Chemical Properties,” *Tech. Regul. Guid. Doc. Fact Sheets PFAS*, vol. 4, 2022, doi: 10.3138/9781487584719-008.

[32] M. P. Krafft and J. G. Riess, “Selected physicochemical aspects of poly- and

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

perfluoroalkylated substances relevant to performance, environment and sustainability—Part one," *Chemosphere*, vol. 129, pp. 4–19, 2015, doi: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.039.

[33] G. Ding and W. J. G. M. Peijnenburg, "Physicochemical Properties and Aquatic Toxicity of Poly- and Perfluorinated Compounds," *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, vol. 43, no. 6, pp. 598–678, Jan. 2013, doi: 10.1080/10643389.2011.627016.

[34] S. Zhao *et al.*, "Uptake, elimination and biotransformation of N-ethyl perfluorooctane sulfonamide (N-EtFOSA) by the earthworms (Eisenia fetida) after in vivo and in vitro exposure," *Environ. Pollut.*, vol. 241, pp. 19–25, 2018, doi: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.046.

[35] I. T. Cousins *et al.*, "The concept of essential use for determining when uses of PFASs can be phased out," *Environ. Sci. Process. Impacts*, vol. 21, no. 11, pp. 1803–1815, 2019, doi: 10.1039/C9EM00163H.

[36] NDAA for FY, "Per- and Polyfluoroalkyl sybstances (PFAS) Report," 2023.

[37] D. Herzke, E. Olsson, and S. Posner, "Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in consumer products in Norway – A pilot study," *Chemosphere*, vol. 88, no. 8, pp. 980–987, 2012, doi: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.035.

[38] The Danish Environmental Protection Agency, *Short-chain Polyfluoroalkyl Substances (PFAS)*, no. 1707. 2015.

[39] W. Bil, M. J. Zeilmaker, and B. G. H. Bokkers, "Internal Relative Potency Factors for the Risk Assessment of Mixtures of Per-and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Human Biomonitoring," *Environ. Health Perspect.*, vol. 130, no. 7, p. 77005, Jan. 2022, doi: 10.1289/EHP10009.

[40] ATSDR, "Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) and Your Health," 2022. https://www.atsdr.cdc.gov/pfas/health-effects/index.html.

[41] Atsdr, "An Overview of the Science and Guidance for Clinicians PFAS on Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS)," 2019.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

[42] M. J. Kemp and C. A. Boyd, “PFAS Toxicology–The Science Behind the Variation in Drinking Water Standards,” *J. New Engl. Water Work. Assoc.*, vol. 133, no. 4, pp. 243–255, 2019.

[43] K. B. Gützkow, L. S. Haug, C. Thomsen, A. Sabaredzovic, G. Becher, and G. Brunborg, “Placental transfer of perfluorinated compounds is selective – A Norwegian Mother and Child sub-cohort study,” *Int. J. Hyg. Environ. Health*, vol. 215, no. 2, pp. 216–219, Feb. 2012, doi: 10.1016/J.IJHEH.2011.08.011.

[44] “National Institute of Environmental Health Sciences.” https://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/pfc/index.cfm.

[45] A. Glynn, J. Benskin, S. Lignell, I. Gyllenhammar, M. Aune, and T. Cantillana, “Temporal trends of perfluoroalkyl substances in pooled serum samples from first-time mothers in Uppsala 1997–2014,” 2015.

[46] K. Kato, L.-Y. Wong, L. T. Jia, Z. Kuklenyik, and A. M. Calafat, “Trends in Exposure to Polyfluoroalkyl Chemicals in the U.S. Population: 1999 – 2008,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 45, no. 19, pp. 8037–8045, Oct. 2011, doi: 10.1021/es1043613.

[47] T. Stahl, D. Mattern, and H. Brunn, “Toxicology of perfluorinated compounds,” *Environ. Sci. Eur.*, vol. 23, Dec. 2011, doi: 10.1186/2190-4715-23-38.

[48] B. E. Blake and S. E. Fenton, “Early life exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) and latent health outcomes: A review including the placenta as a target tissue and possible driver of peri- and postnatal effects,” *Toxicology*, vol. 443, p. 152565, 2020, doi: https://doi.org/10.1016/j.tox.2020.152565.

[49] W. S. Chambers, J. G. Hopkins, and S. M. Richards, “A Review of Per- and Polyfluorinated Alkyl Substance Impairment of Reproduction,” *Front. Toxicol.*, vol. 3, 2021, doi: 10.3389/ftox.2021.732436.

[50] E. Panieri, K. Baralic, D. Djukic-Cosic, A. Buha Djordjevic, and L. Saso, “PFAS Molecules: A Major Concern for the Human Health and the

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

Environment," *Toxics*, vol. 10, no. 2, 2022, doi: 10.3390/toxics10020044.

[51] EFSA CONTAM Panel *et al.*, "Risk to human health related to the presence of perfluoroalkyl substances in food," *EFSA J.*, vol. 18, no. 9, p. e06223, 2020, doi: https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6223.

[52] S. Nübler *et al.*, "Interlaboratory Comparison Investigations (ICIs) and External Quality Assurance Schemes (EQUASs) for human biomonitoring of perfluoroalkyl substances (PFASs) in serum as part of the quality assurance programme under HBM4EU," *Sci. Total Environ.*, vol. 847, p. 157481, 2022, doi: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157481.

[53] J. L. A. Pennings *et al.*, "Cord blood gene expression supports that prenatal exposure to perfluoroalkyl substances causes depressed immune functionality in early childhood," *J. Immunotoxicol.*, vol. 13, no. 2, pp. 173–180, Mar. 2016, doi: 10.3109/1547691X.2015.1029147.

[54] P. D. Gluckman, M. A. Hanson, C. Cooper, and K. L. Thornburg, "Effect of In Utero and Early-Life Conditions on Adult Health and Disease," *N. Engl. J. Med.*, vol. 359, no. 1, pp. 61–73, Jul. 2008, doi: 10.1056/NEJMra0708473.

[55] "European Environment Agency." https://www.eea.europa.eu/en.

[56] S. E. Fenton *et al.*, "Per- and Polyfluoroalkyl Substance Toxicity and Human Health Review: Current State of Knowledge and Strategies for Informing Future Research.," *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 40, no. 3, pp. 606–630, Mar. 2021, doi: 10.1002/etc.4890.

[57] Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, *ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2022/2388 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ*. 2022.

[58] ITRC, "History and Use of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) found in the Environment," 2020.

[59] Ι. Ν. Παπαδογιάννης, *Σύγχρονες διαχωριστικές τεχνικές στην ενόργανη χημική ανάλυση*. Θεσσαλονίκη: Πήγασσος, 2004.

[60] Ι. Ν. Παπαδογιάννης and Β. Φ. Σαμανίδου, *Ενόργανη Χημική Ανάλυση*. Θεσσαλονίκη: Πήγασος, 2001.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

[61] Χ. Κοντογιάννης, “Υγρή Χρωματογραφία,” Πάτρα, 2015.

[62] D. A. Skoog, F. J. Holler, and S. . Crouch, *Principles of Instrumental Analysis*, Sixth. Belmont: Brooks Cole, 2007.

[63] ChromTech, “Why You Should be Using a Delay Column for PFAS Analysis,” 2022. .

[64] Β. Ντουρτόγλου, Α. Χατζηλαζάρου, and Ε. Ντουρτόγλου, “Σύγχρονες μέθοδοι ενόργανης ανάλυσης. Ενότητα 5: Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC),” Αθήνα, 2014.

[65] Waters, “HPLC Separation Modes.” .

[66] Ι. Α. Στράτης, Δ. Γ. Θεμελής, Γ. Α. Ζαχαριάδης, Α. Ν. Ανθεμίδης, and Α. Σ. Οικονόμου, *Ενόργανη Χημική Ανάλυση ΙΙ*. Θεσσαλονίκη, 2004.

[67] C. Dass, *Fundamentals of contemporary mass spectrometry*. John Wiley & Sons, 2007.

[68] E. D. de Cerio Alonso de Mezquía, “New analytical approaches to assess the phenolic composition of guava (psidium guajava l.) leaves with anti-diabetic related risk factors bioactivity,” 2017.

[69] Γ. Θεοδωρίδης, “Φασματομετρία Μάζας,” Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

[70] Π. Παπαγιαννακόπουλος, “Φασματοσκοπία Μάζας,” Ηράκλειο.

[71] P. Makoś-Chełstowska, E. Słupek, and J. Gebicki, “Hydrophobic deep eutectic solvents in microextraction techniques–A review,” *Microchem. J.*, vol. 152, p. 104384, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.microc.2019.104384.

[72] Macherey-Nagel, “Chromatography- Colums and Supplies,” 2016.

[73] Γ. Ζαχαριάδης, Γ. Θεοδωρίδης, Β. Σαμανίδου, and Ι. Στράτης, *Ειδικές Μέθοδοι Διαχωρισμού και Χημικής Ανάλυσης*. Θεσσαλονίκη: ΖΗΤΗ, 2004.

[74] Α. Βουλγαρόπουλος, Γ. Ζαχαριάδης, and Σ. Γηρούση, *Έλεγχος και διασφάλιση ποιότητας με στοιχεία μετρολογίας και χημειομετρίας*. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Ζήτη, 2013.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

[75] International council for harmonisation of technical requirements for pharmaceuticals for human use, “BIOANALYTICAL METHOD VALIDATION AND STUDY SAMPLE ANALYSIS M10,” 2022.

[76] EMA, “Guideline on bioanalytical method validation’. European Medicines Agency,” 2021.

[77] FDA - Center for Drug Medicine Evaluation and Research Center for Veterinary, “Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry,” 2018.

[78] Academy Standards Board, “Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology,” *ASB Stand. 036, First Ed.*, 2019.

[79] B. Magnusson and U. (eds. . Örnemark, *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, 2nd ed. 2014.

[80] International council for harmonisation of technical requirements for pharmaceuticals for human use, “ICH guideline M10 on bioanalytical method validation Step 2b,” 2019.

[81] P. Timmerman *et al.*, “European Bioanalysis Forum feedback on draft ICH M10 guideline on bioanalytical method validation during the Step 2b public consultation period,” *Bioanalysis*, vol. 12, no. 6s, pp. 1–11, 2020, doi: 10.4155/bio-2020-0065.

[82] Waters OASIS Sample Extraction Products, “OASIS WAX SPE Products for Strogly Acids Compounds,” 2005.

[83] G. Frigerio, S. Cafagna, E. Polledri, R. Mercadante, and S. Fustinoni, “Development and validation of an LC–MS/MS method for the quantitation of 30 legacy and emerging per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in human plasma, including HFPO-DA, DONA, and cC6O4,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 414, no. 3, pp. 1259–1278, 2022, doi: 10.1007/s00216-021-03762-1.

[84] M. Honda, M. Robinson, and K. Kannan, “A simple method for the analysis of neonicotinoids and their metabolites in human urine,” *Environ. Chem.*, vol.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

16, no. 3, pp. 171–178, 2019.

[85] Y. Gao *et al.*, “Differential Accumulation and Elimination Behavior of Perfluoroalkyl Acid Isomers in Occupational Workers in a Manufactory in China,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 49, no. 11, pp. 6953–6962, Jun. 2015, doi: 10.1021/acs.est.5b00778.

[86] N. Li, G.-G. Ying, H. Hong, and W.-J. Deng, “Perfluoroalkyl substances in the urine and hair of preschool children, airborne particles in kindergartens, and drinking water in Hong Kong,” *Environ. Pollut.*, vol. 270, p. 116219, 2021, doi: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116219.

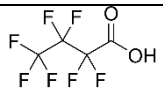
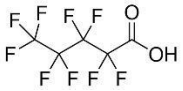
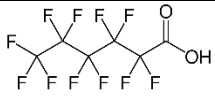
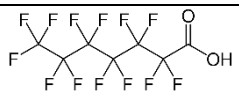
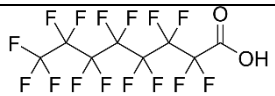
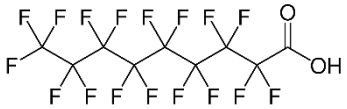
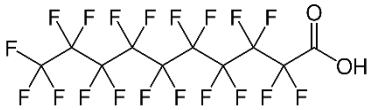
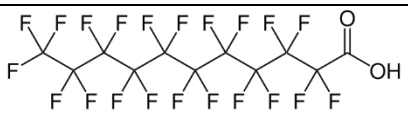
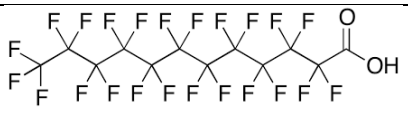
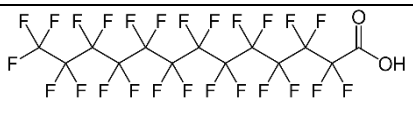
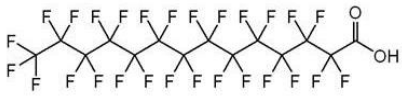
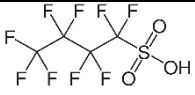
[87] OECD, “PFASs and Alternatives in Food Packaging (Paper and Paperboard) Report on the Commercial Availability and Current Uses,” OECD Series on Risk Management, No. 58, Environment,Health and Safety,Environment Directorate, OECD, 2020.

[88] H. Hill, “Development of bioanalysis: a short history,” *Bioanalysis*, vol. 1, no. 1, pp. 3–7, Mar. 2009, doi: 10.4155/bio.09.3.

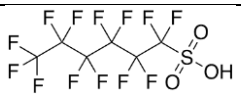
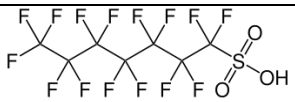
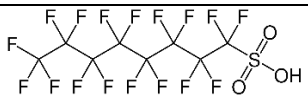
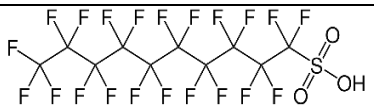
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Οι ενώσεις των PFAS που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη αυτή αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα:

ΟΝΟΜΑ ΕΝΩΣΗΣ	ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ	ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΜΟΡΙΑΚΟ ΒΑΡΟΣ (g/mol)	ΑΡΙΘΜΟΣ CAS
Perfluorobutanoic acid		PFBA	$C_4F_7O_2H$	214.04	375-22-4
Perfluoropentanoic acid		PFPeA	$C_5F_9O_2H$	264.05	2706-90-3
Perfluorohexanoic acid		PFHxA	$C_6F_{11}O_2H$	314.05	307-24-4
Perfluoroheptanoic acid		PFHpA	$C_7F_{13}O_2H$	364.06	375-85-9
Perfluorooctanoic acid		PFOA	$C_8F_{15}O_2H$	414.07	335-67-1
Perfluorononanoic acid		PFNA	$C_9F_{17}O_2H$	464.08	375-95-1
Perfluorodecanoic acid		PFDA	$C_{10}F_{19}O_2H$	514.08	335-76-2
Perfluoroundecanoic acid		PFUnDA	$C_{11}F_{21}O_2H$	564.09	2058-94-8
Perfluorododecanoic acid		PFDoA	$C_{12}F_{23}O_2H$	614.10	307-55-1
Perfluorotridecanoic acid		PFTrDA	$C_{13}F_{25}O_2H$	664.11	72629-94-8
Perfluorotetradecanoic acid		PFTeDA	$C_{14}F_{27}O_2H$	714.11	376-06-7
Perfluorobutane sulfonate		PFBS	$C_4F_9SO_3H$	300.10	375-73-5

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250

ΟΝΟΜΑ ΕΝΩΣΗΣ	ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ	ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΜΟΡΙΑΚΟ ΒΑΡΟΣ (g/mol)	ΑΡΙΘΜΟΣ CAS
Perfluorohexane sulfonate		PFHxS	$C_6F_{13}SO_3H$	400.11	355-46-4
Perfluoroheptane sulfonate		PFHpS	$C_7F_{15}SO_3H$	450.12	375-92-8
Perfluorooctane sulfonate		PFOS	$C_8F_{17}SO_3H$	500.13	1763-23-1
Perfluorodecane sulfonate		PFDS	$C_{10}F_{21}SO_3H$	600.14	335-77-3

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
05/09/2026 15:52:28 EEST - 216.73.216.250