



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙ-ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ (Δ.Π.Μ.Σ.)
«ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»

ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ – ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΜΕΤΑΛΛΩΝ
ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ Α. ΣΑΛΟΝΙΚΙΔΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2025



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙ-ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ (Δ.Π.Μ.Σ.)

«ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»

**ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ – ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΜΕΤΑΛΛΩΝ
ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΛΙΚΑ**

ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ Α. ΣΑΛΟΝΙΚΙΔΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2025

**Εισαγωγή στο ΔΙ-ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
(Δ.Π.Μ.Σ.) «ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»
του κ. Σαλονικίδη Παναγιώτη**

Επιβλέπων μέλος ΔΕΠ: Δρ. Βασιλική Μπούμπα

Θέμα: «Τοξικότητα Βαρέων Μετάλλων - Αξιολόγηση συγκέντρωσης μετάλλων σε βιολογικά υλικά»

Ορισμός Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής από την Επιτροπή Προγράμματος Σπουδών (ΕΠΣ)::.....^Α/...-...-.....

1. Μπούμπα Βασιλική, Καθηγήτρια, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων (Επιβλέπουσα)
2. Χατζηκακού Σωτήριος, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων (Μέλος)
3. Κουρκουμέλης Νικόλαος, Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων (Μέλος)

Έγκριση Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας στις

Ο Διευθυντής του Δ.Π.Μ.Σ.
Καθηγητής Σωτήριος Χατζηκακού

Ο/Η Γραμματέας

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Πρόλογος.....	8
2. Περίληψη.....	9
3. Εισαγωγή.....	11
3.1 Τοξικότητα και δηλητηρίαση.....	11
3.2 Τα μέταλλα και η τοξικολογική τους σημασία.....	12
3.3 Έκθεση σε μέταλλα.....	12
3.4 Τοξικά μέταλλα και επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία.....	14
A. Μόλυβδος.....	15
B. Κάδμιο.....	17
C. Υδράργυρος.....	20
D. Αρσενικό.....	23
E. Χρώμιο.....	24
F. Νικέλιο.....	25
G. Θάλλιο.....	26
3.5 Ανάλυση βιολογικών υγρών για την ανίχνευση τοξικών ουσιών και μετάλλων.....	28
3.6 Ανάλυση αίματος και ούρων από νεκροτομικό υλικό.....	33
3.7 Επίπεδα βαρέων μετάλλων σε βιολογικά υλικά - εκτίμηση της τοξικότητας.....	34
3.8 Μέθοδοι προσδιορισμού βαρέων μετάλλων σε βιολογικά δείγματα.....	39
4. Φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης.....	41
4.1 Αρχές ατομικής απορρόφησης.....	41
4.2 Κύρια όργανα της φασματοσκοπικής ατομικής απορρόφησης.....	42
4.3 Πηγές ακτινοβολίας.....	43
4.4 Μονοχρωμάτορας.....	44
4.5 Σύστημα ατομοποίησης.....	46
4.6 Ανιχνευτές.....	47
4.7 Ενδεικτικές εφαρμογές της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης.....	48

5. Φασματομετρία Μαζών Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS).....	52
5.1 Αρχή της μεθόδου.....	52
5.2 Οργανολογία.....	52
5.3 Φασματοσκοπικές παρεμποδίσεις.....	54
5.4 Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση.....	55
5.5 Ενδεικτικές εφαρμογές της φασματομετρίας μαζών επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος.....	56
5.6 Φασματοσκοπία Ατομικής Εκπομπής Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-OES)	59
6. Ανάλυση φθορισμού ακτινών X (X-ray fluorescence (XRF)).....	61
6.1 Αρχές φθορισμού ακτινών X.....	61
6.2 Κύρια όργανα φασματοσκοπίας φθορισμού ακτινών X.....	62
6.3 Πηγές ακτινοβολίας.....	63
6.4 Ανιχνευτές-μεταλλάκτες.....	67
6.5 Επεξεργασία σήματος.....	69
6.6 Όργανα	70
6.7 Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση.....	73
6.8 Ενδεικτικές εφαρμογές της φασματοσκοπίας φθορισμού ακτινών X.....	74
7. Συμπεράσματα.....	81
8. Βιβλιογραφία.....	83

1. Πρόλογος

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο του διατμηματικού μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και πραγματεύεται ένα κρίσιμο ζήτημα στον χώρο της αναλυτικής χημείας και της τοξικολογίας, την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση τοξικών μετάλλων σε βιολογικά δείγματα.

Η μελέτη των βαρέων μετάλλων και ιδιαιτέρως του μόλυβδου, του καδμίου, του υδραργύρου, του αρσενικού, αποτελεί πεδίο μείζονος σημασίας, τόσο για την κατανόηση των βιοχημικών επιπτώσεων στον ανθρώπινο οργανισμό όσο και για την πρακτική τους εφαρμογή σε ιατροδικαστικές και περιβαλλοντικές εφαρμογές. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στις τεχνικές της Φασματοσκοπίας Ατομικής Απορρόφησης (AAS), Φασματομετρίας μάζας με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-MS) και της Φασματοσκοπίας Φθορισμού Ακτίνων Χ (XRF), με την τελευταία να αποτελεί μια καινοτόμο, μη καταστρεπτική και ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο για τον ταχύ και αξιόπιστο προσδιορισμό μεταλλικών ιχνοστοιχείων.

Η εργασία περιλαμβάνει εκτενή βιβλιογραφική ανασκόπηση των σύγχρονων μεθόδων προσδιορισμού βαρέων μετάλλων σε βιολογικά υγρά. Από την φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης στη φασματομετρία μαζών με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα και από την φασματοσκοπία ατομικής εκπομπής με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα στη φασματοσκοπία φθορισμού ακτίνων Χ.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στους διδάσκοντες και επιβλέποντες καθηγητές για την καθοδήγηση τους, καθώς και στην οικογένεια μου για την αμέριστη στήριξη της καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Ιωάννινα, 2025

Σαλονικίδης Α. Παναγιώτης

2. Περίληψη

Τα βαρέα μέταλλα αποτελούν μια κατηγορία χημικών στοιχείων με ιδιαίτερη τοξικολογική σημασία, καθώς η έκθεση σε αυτά μπορεί να προκαλέσει σοβαρές βλάβες στην ανθρώπινη υγεία. Η παρουσία μετάλλων όπως το κάδμιο, ο μόλυβδος, το χρώμιο, ο υδράργυρος, το αρσενικό δεν έχουν φυσιολογικό ρόλο στον ανθρώπινο οργανισμό και ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις ενδέχεται να προκαλέσουν νευρολογικές, ηπατικές, νεφρικές και αναπαραγωγικές δυσλειτουργίες. Η ποιοτική και ποσοτική ανάλυση αυτών των μετάλλων σε βιολογικά υγρά είναι κρίσιμη τόσο για την κλινική αξιολόγηση όσο και για την ιατροδικαστική.

Η πιο γνωστή μέθοδος για την αξιολόγηση της επιβάρυνσης ενός οργανισμού με βαρέα μέταλλα είναι η ανάλυση αίματος και ούρων. Τα δύο αυτά βιολογικά υγρά αποτελούν δείκτες τόσο οξείας όσο και χρόνιας έκθεσης και η αξιολόγησή τους έχει ευρεία εφαρμογή στην ιατρική διάγνωση, στη δημόσια υγεία και στην επαγγελματική υγιεινή. Ιδιαίτερα στον τομέα της ιατροδικαστικής τοξικολογίας, η ανίχνευση μετάλλων σε δείγματα νεκροτομικού υλικού -όπως το αίμα και τα ούρα- συμβάλλει καθοριστικά στην τεκμηρίωση αιτιών θανάτου, ιδίως σε περίπτωση ύποπτων δηλητηριάσεων ή έκθεσης σε βλαπτικούς παράγοντες.

Η παρούσα εργασία επικεντρώνεται στις μεθόδους προσδιορισμού μετάλλων σε νεκροτομικά υλικά -αίμα και ούρα-, με τη βιβλιογραφική ανάλυση να αναδεικνύονται τα πλεονεκτήματα, οι περιορισμοί και η αξιοπιστία των μεθόδων αυτών στον προσδιορισμό τοξικών μετάλλων σε βιολογικά υλικά.

Λέξεις κλειδιά : βαρέα μέταλλα, αίμα, ούρα, φασματοσκοπία φθορισμού ακτινών X, XRF, φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης, AAS, φασματομετρία μάζας με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα, ICP-MS

ABSTRACT

Heavy metals constitute a distinct class of chemical elements with toxicological significance, as exposure to them can cause severe health issues. Metals such as lead, cadmium, mercury, chromium, arsenic have no normal role in the human body and even at low concentrations may cause neurological, hepatic, renal and reproductive dysfunctions. The identification of the presence and level of these metals in biological samples is crucial for both clinical evaluation and forensic investigation for causes of death.

Blood and urine, for a toxicological analysis, are the most widely used samples for assessing the burden of metals in an organism. These two biological fluids are indicators of both acute and chronic exposure, while their assessment has wide application in medical diagnosis, public health, occupational hygiene and forensic practice. Particularly in the field of forensic toxicology, the detection of metals in autopsy samples - such as blood and urine - contributes decisively to the documentation of causes of death, especially in cases of suspected poisoning or exposure to harmful agents.

This thesis focuses on the methods for the determination of metals in postmortem materials, blood and urine. Through a comprehensive overview of the available techniques and the bibliographic analysis, the advantages, limitations and reliability of these methods in the determination of toxic metals in biological materials are highlighted.

Keywords: heavy metals, blood, urine, X-ray fluorescence spectroscopy, XRF, atomic absorption spectroscopy, AAS, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS

3. Εισαγωγή

3.1 Τοξικότητα και δηλητηρίαση

Ως τοξικότητα ορίζεται η ικανότητα μιας ουσίας να προκαλεί βλαβερές επιδράσεις σε έναν ζωντανό οργανισμό, όταν αυτή ληφθεί σε επαρκή ποσότητα. Πρόκειται για έννοια πολυπαραγοντική, καθώς η επίδραση μιας τοξικής ουσίας εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως η δόση, ο χρόνος έκθεσης, ο τρόπος εισόδου, η βιοδιαθεσιμότητα της ουσίας και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του οργανισμού, όπως η ηλικία, το φύλο και η γενετική προδιάθεση (Klassen et al., 2015). Ένα από τα θεμελιώδη αξιώματα της τοξικολογίας, διατυπωμένο από τον Παράκελσο ήδη από τον 16^ο αιώνα, είναι η φράση «Η δόση κάνει το δηλητήριο» (Sola dosis facit venenum), τονίζοντας ότι ακόμα και ουσίες που θεωρούνται αβλαβείς μπορούν να γίνουν τοξικές αν χορηγηθούν σε υψηλή ποσότητα. (Wikipedia, 2022)

Η τοξικότητα χαρακτηρίζεται οξεία, όταν η βλάβη προκαλείται έπειτα από μία ή μερικές εκθέσεις σε μικρό χρονικό διάστημα (συνήθως <24 ώρες), και σε χρόνια, όταν η έκθεση είναι παρατεταμένη και τα συμπτώματα εμφανίζονται μακροπρόθεσμα. Η αξιολόγηση της τοξικότητας συχνά βασίζεται σε δείκτες όπως η θανατηφόρος δόση 50 (LD50), που εκφράζει τη δόση μιας ουσίας που προκαλεί θάνατο στο 50% ενός πληθυσμού πειραματόζωων (Klassen et al., 2015). Μέσα στο πλαίσιο της ποσοτικής αξιολόγησης της τοξικότητας δύο κρίσιμες παράμετροι είναι οι δείκτες NOAEL και LOAEL. Ο NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) ορίζεται ως η υψηλότερη δόση μιας ουσίας στην οποία δεν παρατηρείται καμία αρνητική επίδραση στον εξεταζόμενο οργανισμό, είτε πρόκειται για εργαστηριακά ζώα είτε για ανθρώπους σε επιδημιολογικές μελέτες. Αντίθετα, ο LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level) είναι η χαμηλότερη δόση στην οποία αρχίζουν να παρατηρούνται αρνητικές επιδράσεις, όπως τοξικές βλάβες σε όργανα, βιοχημικές και λειτουργικές διαταραχές (Klassen et al., 2015). Οι δείκτες αυτοί χρησιμοποιούνται κυρίως σε μελέτες υποχρόνιων και χρόνιων εκθέσεων και αποτελούν θεμέλια για τον υπολογισμό ορίων ασφαλείας και ανεκτών ημερήσιων προσλήψεων (ADI, Acceptable Daily Intake) για τον άνθρωπο. Η σημασία των NOAEL και LOAEL είναι ιδιαίτερα έντονη στη ρυθμιστική τοξικολογία, καθώς μέσω αυτών μπορούν να καθοριστούν παράγοντες ασφάλειας, ώστε να μετατραπούν τα πειραματικά δεδομένα σε οδηγίες για το ευρύ κοινό (Klassen et al., 2015). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η τοξικότητα δεν αφορά μόνο την άμεση βλάβη των κυττάρων ή ιστών, αλλά μπορεί να περιλαμβάνει

μηχανισμούς όπως γενετικές μεταλλάξεις, καρκινογένεση, οξειδωτικό στρες, ορμονικές διαταραχές και αναστολή ενζυμικών συστημάτων. Κατά συνέπεια, η σωστή κατανόηση της τοξικότητας είναι κρίσιμη για την ερμηνεία των ευρημάτων σε νεκροτομικά δείγματα, ιδίως όταν εξετάζονται πιθανές αιτίες θανάτου που σχετίζονται με έκθεση σε τοξικά μέταλλα (Klassen et al., 2015).

3.2 Τα μέταλλα και η τοξικολογική τους σημασία

Τα μέταλλα αποτελούν χημικά στοιχεία ή κράματα με ιδιαίτερες φυσικές και χημικές ιδιότητες όπως υψηλή ηλεκτρική και θερμική αγωγιμότητα, μεταλλική λάμψη, σκληρότητα και δομική αντοχή. Από βιολογικής σκοπιά, τα μέταλλα είναι εξαιρετικά σημαντικά, καθώς ανάλογα με το είδος και την συγκέντρωσή τους, μπορούν να εμπλέκονται σε φυσιολογικές λειτουργίες του ανθρώπινου οργανισμού αλλά και να προκαλούν σοβαρές τοξικές βλάβες (Klassen et al., 2015).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η χημική σταθερότητα των μετάλλων, καθώς αποτελούν φυσικά στοιχεία που δεν αποικοδομούνται από βιολογικούς ή χημικούς μηχανισμούς, σε αντίθεση με άλλες οργανικές τοξίνες. Το γεγονός αυτό, τα καθιστά ικανά να συσσωρεύονται στο περιβάλλον και στους οργανισμούς, οδηγώντας σε φαινόμενα βιοσυσσώρευσης και βιομεγέθυνσης (Klassen et al., 2015). Ένα βασικό χαρακτηριστικό της τοξικότητας τους είναι η ικανότητα παραγωγής ελεύθερων ριζών και αντιδραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species ROS), που σχετίζονται με κυτταρικές βλάβες, μεταλλάξεις και το οξειδωτικό στρες (Klassen et al., 2015).

Παρά την επικινδυνότητά τους, ορισμένα μέταλλα είναι απαραίτητα για τη ζωή. Μέταλλα όπως ο σίδηρος (Fe), ο ψευδάργυρος (Zn) και ο χαλκός (Cu) συμμετέχουν σε κρίσιμες βιολογικές διεργασίες όπως η μεταφορά οξυγόνου, η σύνθεση DNA και η ενζυμική δράση. Αντιθέτως, μέταλλα όπως ο μόλυβδος (Pb), το κάδμιο (Cd) και ο υδράργυρος (Hg) είναι τοξικά ακόμα και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, χωρίς καμιά γνωστή φυσιολογική λειτουργία στον άνθρωπο (Iwegbue et al., 2014).

3.3 Έκθεση σε μέταλλα

Η ανίχνευση και η ποσοτικοποίηση των μετάλλων σε βιολογικά δείγματα είναι μια σημαντική διαδικασία για την σύγχρονη ιατρική, την τοξικολογία και την

περιβαλλοντική επιστήμη. Είναι γεγονός ότι η έκθεση σε βαρέα μέταλλα μπορεί να οφείλεται σε διάφορες πηγές :

- Διατροφή
- Επαγγελματική δραστηριότητα
- Περιβαλλοντικοί παράγοντες
- Καθημερινά αντικείμενα (παιχνίδια, καλλυντικά, κοσμήματα)

Η διατροφή αποτελεί την κύρια πηγή έκθεσης του ανθρώπου σε βαρέα μέταλλα με τρόφιμα όπως το ρύζι και τα λαχανικά να θεωρούνται βασικοί φορείς αυτών, ιδιαίτερα σε περιοχές με υψηλή περιβαλλοντική μόλυνση (Hu et al., 2021). Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η επαρχία Χουνάν στην Κίνα, όπου η βιομηχανική δραστηριότητα έχει οδηγήσει σε σοβαρή μόλυνση του εδάφους με βαρέα μέταλλα. Μελέτες δείχνουν ότι το ρύζι και τα λαχανικά που καλλιεργούνται κοντά στις μονάδες τήξης περιέχουν υψηλά επίπεδα καδμίου αυξάνοντας τον κίνδυνο για την ασφάλεια των τροφίμων και τη δημόσια υγεία (Hu et al., 2021). Η κατανάλωση ποτών, ιδιαίτερα του κρασιού μπορεί να αποτελεί πηγή τόσο ωφέλιμων όσο και επιβλαβών μετάλλων. Έρευνες δείχνουν ότι το κρασί μπορεί να συμβάλει στη διαιτητική πρόσληψη ευεργετικών μετάλλων όπως ο χαλκός και ο σίδηρος, αλλά παράλληλα μπορεί να περιέχει τοξικά στοιχεία, όπως ο μόλυβδος και το αλουμίνιο, εάν δεν υπάρξει κατάλληλη ρύθμιση και έλεγχος (Tariba, 2011).

Πέρα από την άμεση κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων, η βιοσυσσωρευση βαρέων μετάλλων στην τροφική αλυσίδα περιπλέκει την αξιολόγηση των κινδύνων για την υγεία. Τα φυτά απορροφούν βαρέα μέταλλα από το μολυσμένο έδαφος, τα οποία στη συνέχεια μεταφέρονται στην τροφική αλυσίδα και τελικά καταλήγουν στον άνθρωπο μέσω της διατροφής (Nkwunonwo et al., 2020). Η απορρόφηση των μετάλλων από τα φυτά επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως το pH του εδάφους, η υγρασία και η οργανική μορφή του μετάλλου, καθορίζοντας έτσι τον βαθμό μόλυνσης των καλλιεργειών (Nkwunonwo et al., 2020).

Επίσης, η επαγγελματική έκθεση σε αυτά συνιστά ένα σοβαρό ζήτημα για την υγεία. Εργαζόμενοι στη μεταποίηση, τις κατασκευές και την εξόρυξη μετάλλων διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο, καθώς η παρατεταμένη επαφή με αυτά μπορεί να οδηγήσει σε βλάβες οργάνων και αναπνευστικές διαταραχές (Samaila, 2023). Η προστασία της υγείας των εργαζομένων προϋποθέτει συνεχή έλεγχο των

συγκεντρώσεων των μετάλλων στο εργασιακό περιβάλλον και την εφαρμογή αυστηρών πρωτόκολλων ασφαλείας (Samaila, 2023).

Οι επιπτώσεις, της έκθεσης σε μέταλλα, στην ανθρώπινη υγεία είναι ιδιαίτερα έντονες στα παιδιά. Για παράδειγμα από μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη Νιγηρία βρέθηκε ότι πολλά βασικά τρόφιμα είναι μολυσμένα με κάδμιο και μόλυβδο, κατανάλωση των οποίων συνδέεται ισχυρά με αναπτυξιακά προβλήματα στα παιδιά. Παράλληλα έρευνες δείχνουν ότι η παρατεταμένη έκθεση σε βαρέα μέταλλα είναι δυνατό να οδηγήσει σε γνωστικά ελλείμματα και προβλήματα συμπεριφοράς (Samaila, 2024). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας προειδοποιεί ότι η μόλυνση των τροφίμων με βαρέα μέταλλα αποτελεί σοβαρό ζήτημα για τη δημόσια υγεία, επηρεάζοντας εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως και αυξάνοντας το ποσοστό νοσηρότητας και θνησιμότητας ειδικά στα παιδιά (Samaila, 2024).

Μια σημαντική πηγή, είναι η μόλυνση παιχνιδιών και κοσμημάτων που μπορεί να εκθέσουν τα παιδιά σε επιβλαβή μέταλλα (Murphy et al., 2016). Σύμφωνα με μελέτες, τα φθηνά προϊόντα περιέχουν συχνά επικίνδυνα υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων, και έτσι απαιτούνται αυστηροί έλεγχοι προσδιορισμού και παρακολούθησης για τη μείωση των κινδύνων έκθεσης (Murphy et al., 2016). Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό σε υπανάπτυκτες χώρες, όπου μπορεί να υπάρχουν πιο χαλαροί κανονισμοί και έλεγχοι, αυξάνοντας τον κίνδυνο έκθεσης σε μέταλλα (Horton et al., 2013).

Εν κατακλείδι, η σημασία της ταυτοποίησης των μετάλλων στο πλαίσιο της ανθρώπινης υγείας είναι πολυδιάστατη, καλύπτοντας περιβαλλοντικές, επαγγελματικές και διατροφικές εκθέσεις. Οι πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφόρων μετάλλων, οι τοξικολογικές τους επιπτώσεις και η ευαισθησία ορισμένων πληθυσμών καθιστούν αναγκαία μια ολοκληρωμένη προσέγγιση για την αξιολόγηση των κινδύνων των μετάλλων.

3.4 Τοξικά μέταλλα και επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία

Τα μέταλλα χαρακτηρίζονται από τους ποικίλους ρόλους στον ανθρώπινο οργανισμό, με κάποια να είναι απαραίτητα για ζωτικές λειτουργίες, ενώ άλλα να είναι εν δυνάμει τοξικά ή ακόμη και θανατηφόρα σε υψηλές συγκεντρώσεις. Παράλληλα, ορισμένα μέταλλα διαθέτουν θεραπευτικές ιδιότητες και χρησιμοποιούνται στην φαρμακευτική, ενώ κάποια άλλα, αν και δυνητικά τοξικά, μπορεί υπό συγκεκριμένες

συνθήκες να έχουν ευεργετικές εφαρμογές. Η διαφοροποίηση μεταξύ ωφέλιμης και επιβλαβούς δράσης εξαρτάται από τη συγκέντρωση, την βιοδιαθεσιμότητα και τον τρόπο με τον οποίο ο οργανισμός τα μεταβολίζει (Klassen et al., 2015). Ακολουθούν τα βασικότερα βαρέα μέταλλα που ανιχνεύονται σε περιστατικά ανθρώπινης μόλυνσης.

A. Μόλυβδος (Pb)

Ο μόλυβδος είναι ένα από τα πιο μελετημένα τοξικά μέταλλα, χωρίς καμία φυσιολογική λειτουργία για τον ανθρώπινο οργανισμό. Ο μόλυβδος εντοπίζεται σχεδόν σε κάθε φάση του αδρανούς περιβάλλοντος, καθώς και σε όλους τους τύπους βιολογικών συστημάτων, γεγονός που καθιστά την ανθρώπινη έκθεση σε αυτόν ιδιαίτερα εύκολη (Klassen et al., 2015). Στο παρελθόν, κύρια πηγή μόλυνσης από τον μόλυβδο αποτελούσαν οι βαφές και οι σωλήνες, οι οποίοι παρασκευάζονταν με βάση το συγκεκριμένο μέταλλο. Με την πάροδο του χρόνου, τόσο οι βαφές όσο και οι σωλήνες απελευθέρωναν μόλυβδο σε μορφή σκόνης στο περιβάλλον, ο οποίος μπορούσε να εισέλθει στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω της εισπνοής. Ιδιαίτερα ευάλωτα ήταν τα παιδιά, τα οποία κατάπιναν είτε φλούδες από τις βαφές είτε σκόνη από το δάπεδο, με αποτέλεσμα να φτάνουν πολύ εύκολα σε τοξικά επίπεδα έκθεσης (Cleveland Clinic, 2022).

Παρά την απόσυρση των μολυβδούχων βαφών, οι άνθρωποι σήμερα εξακολουθούν να εκτίθενται στον μόλυβδο τόσο μέσω επαγγελματικών όσο και περιβαλλοντικών παραγόντων. Η έκθεση αυτή συμβαίνει κυρίως με δύο τρόπους. Πρώτον, μέσω της εισπνοής σωματιδίων μόλυβδου που απελευθερώνονται κατά τη διάρκεια δραστηριοτήτων όπως η καύση ή τήξη υλικών που περιέχουν μόλυβδο, για παράδειγμα κατά την ανακύκλωση μετάλλων, την απομάκρυνση παλιών μολυβδούχων χρωμάτων ή την κατεργασία πλαστικών καλωδίων. Δεύτερον, σημαντική πηγή έκθεσης αποτελεί και η κατάποση σκόνης ή χώματος που έχει επιμολυνθεί, καθώς και κατανάλωση νερού ή τροφίμων που περιέχουν ίχνη μόλυβδου. Και οι δύο περιπτώσεις μπορεί να οδηγήσουν σε σταδιακή βιοσυσσώρευση του τοξικού αυτού μετάλλου στον οργανισμό με σοβαρές συνέπειες για την υγεία (World Health Organization, 2024).

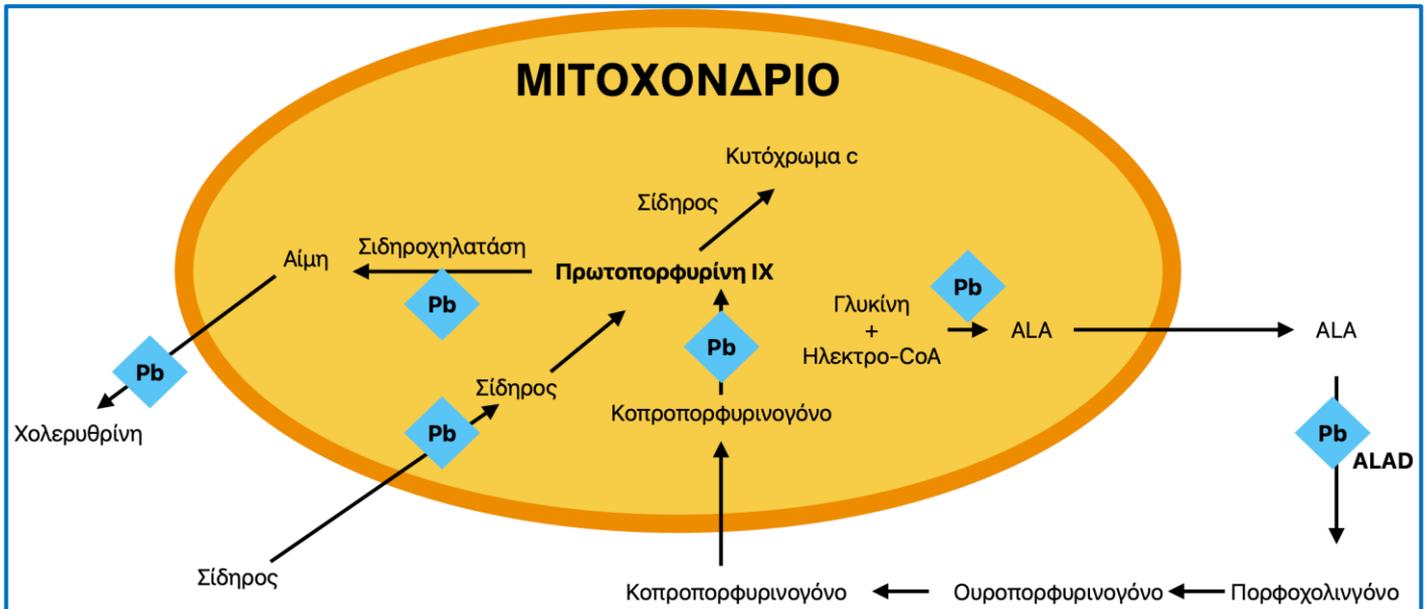
Ανάλογα με την ποσότητα και την χρονική διάρκεια της έκθεσης είναι ικανός να επιφέρει πολλές αρνητικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία,. Οι τοξικές επιδράσεις κυμαίνονται από την αναστολή της δράσης ορισμένων ενζύμων έως την πρόκληση σοβαρών παθήσεων ή ακόμη και θανάτου (Klassen et al., 2015). Αρχικά στην παιδική

ηλικία, ακόμη και μικρές ποσότητες μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά την ανάπτυξη του εγκεφάλου, οδηγώντας σε μαθησιακές δυσκολίες, μειωμένο δείκτη νοημοσύνης, προβλήματα συμπεριφοράς και ελλειμματική προσοχή. Στους ενήλικες, η μακροχρόνια έκθεση συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο υπέρτασης, καρδιαγγειακών προβλημάτων, βλάβες στα νεφρά καθώς και προβλήματα του αναπαραγωγικού, όπως μειωμένη γονιμότητα. Επιπλέον, ο μόλυβδος μπορεί να επηρεάσει την παραγωγή αιμοσφαιρίνης, οδηγώντας σε αναιμία, ενώ η παρουσία του στα οστά, όπου συσσωρεύεται, μπορεί να λειτουργήσει ως μακροχρόνια δεξαμενή τοξικότητας (Klassen et al., 2015).

Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά τις νευρολογικές επιπτώσεις του μόλυβδου στα παιδιά, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο τρόπος με τον οποίο διαταράσσεται η ομαλή ομοίωση του ασβεστίου. Ο μόλυβδος (Pb^{2+}) λόγω της παρόμοιας ιοντικής ακτίνας και φορτίου του με το ασβέστιο (Ca^{2+}) μπορεί να το μιμηθεί και να εισέλθει στα κύτταρα μέσω των ίδιων διαύλων. Εκεί, ενεργοποιεί παθολογικά την πρωτεϊνική κινάση C (PKC), ένα ένζυμο που ρυθμίζει κρίσιμες κυτταρικές λειτουργίες, όπως η διαπερατότητα των μεμβρανών και η σηματοδότηση. Η ανώμαλη ενεργοποίηση της PKC προκαλεί φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών που ελέγχουν τις στενές συνδέσεις μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, αυξάνοντας την διαπερατότητά του. Ως αποτέλεσμα, τοξικές ουσίες και φλεγμονώδη μόρια διαπερνούν στον εγκέφαλο, ενισχύοντας την νευροτοξικότητα και επηρεάζοντας την ομαλή ανάπτυξη του νευρικού συστήματος στα παιδιά (Markovac et al., 1988).

Ακόμη πιο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο τρόπος με τον οποίο ο μόλυβδος διαταράσσει τη βιοσύνθεση της αίμης, προκαλώντας σημαντικές αιματολογικές διαταραχές. Αυτός ασκεί την τοξικότητά του αναστέλλοντας βασικά ένζυμα της μεταβολικής οδού σύνθεσης της αίμης, όπως η αφυδρατάση του δ-αμινολεβουονιλικού οξέος (ALAD) και τη σιδηροχηλατάση. Η αναστολή της ALAD οδηγεί σε συσσώρευση του δ-αμινολεβουονιλικού οξέος (ALA), ενώ η αναστολή της σιδηροχηλατάσης εμποδίζει την ένταξη του σιδήρου στο μόριο της πρωτοπορφυρίνης IX, με αποτέλεσμα τη δημιουργία δυσλειτουργικών μορίων. Στις περιπτώσεις αυτές, η πρωτοπορφυρίνη IX, δεσμεύει ψευδάργυρο αντί για σίδηρο, οδηγώντας στην δημιουργία ψευδοαιμοσφαιρίνης. Αυτή η διαταραχή επηρεάζει τη φυσιολογική λειτουργία των ερυθρών αιμοσφαιρίων, οδηγώντας σε αναιμία, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις παρατεταμένης έκθεσης σε υψηλά επίπεδα μόλυβδου. Τελικώς αυτά τα άτομα εμφανίζουν κλινική εικόνα μικροκυτταρικής αναιμίας (Klassen et al., 2015).

Παρακάτω απεικονίζονται τα βασικά σημεία στα οποία δρα ο μόλυβδος διακόπτοντας τη βιοσύνθεση της αίμης.



Εικόνα 1: Σημεία διακοπής της βιοσύνθεσης της αίμης λόγω παρουσίας του μόλυβδου

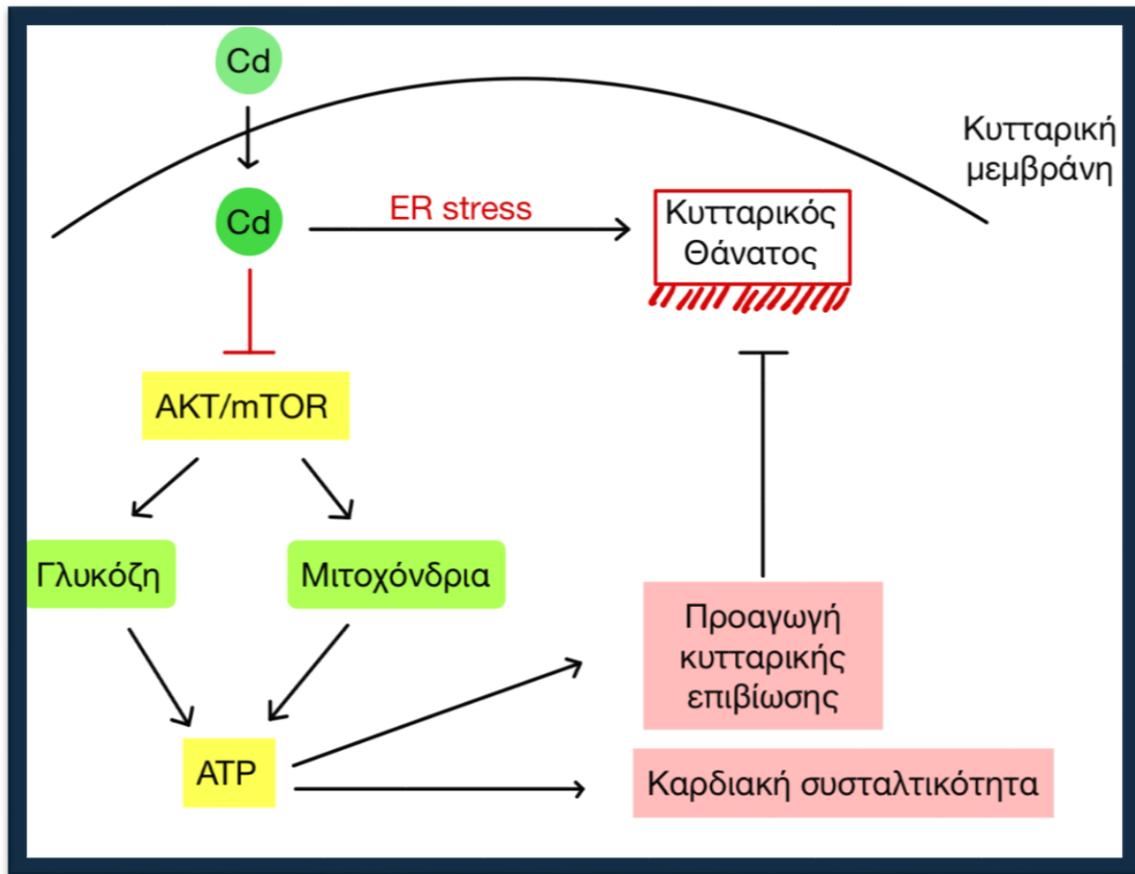
Αξίζει να αναφερθεί ότι τα παιδιά είναι πολύ πιο ευάλωτα σε σχέση με τους ενήλικες στην τοξικότητα του μόλυβδου. Μελέτες έχουν δείξει, για την ίδια ποσότητα προσλαμβανόμενου μόλυβδου, τα παιδιά απορροφούν έως και τέσσερις με πέντε φορές υψηλότερες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με τους ενήλικες (World Health Organization, 2024). Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως τα παιδιά τείνουν να βάζουν τα χέρια και διάφορα αντικείμενα στο στόμα τους - τα οποία συχνά φέρουν σωματίδια σκόνης μόλυβδου - ενώ επίσης συνηθίζουν να μπουσουλούν ή να παίζουν στο πάτωμα, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο εισπνοής μολυσμένης σκόνης (Abelsohn et al., 2010). Επίσης, επειδή βρίσκονται στο στάδιο ανάπτυξης, ενδεχόμενες βλάβες στο κεντρικό νευρικό τους σύστημα μπορεί να έχουν μόνιμες και μη αναστρέψιμες συνέπειες για το υπόλοιπο της ζωής τους. Επιπλέον, το ήπαρ τους δεν έχει ακόμα αναπτυχθεί πλήρως, γεγονός που δυσχεραίνει την αποτελεσματική απομάκρυνση του μόλυβδου από τον οργανισμό (Abelsohn et al., 2010).

B. Κάδμιο (Cd)

Η τροφή είναι μια από τις κυριότερες πηγές καδμίου από τις οποίες μπορεί να μολυνθεί ο άνθρωπος (Klassen et al., 2015). Η συσσώρευση καδμίου στα λαχανικά πραγματοποιείται ταχύτατα λόγω πρόσληψής του τόσο από το έδαφος όσο και από το

νερό. Επιπλέον η συσσώρευση του σε ηπατικούς και νεφρικούς ιστούς ζώων που καταναλώνουν καθημερινά οι άνθρωποι καθώς και ο αέρας που εισπνέουν αποτελεί σημαντική πηγή μόλυνσης. Είναι γεγονός πως ακόμα και το τσιγάρο περιέχει ίχνη καδμίου τα οποία εισέρχονται άμεσα στο αναπνευστικό σύστημα (Klassen et al., 2015). Τέλος κάδμιο μπορεί να ανιχνευτεί σε μελάνια που χρησιμοποιούνται για τατουάζ (Negi et al., 2022).

Το κάδμιο μπορεί να επηρεάσει έντονα την λειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος, οδηγώντας σε σημαντικές δυσλειτουργίες του όπως μείωση της συσταλτικότητας, του καρδιακού ρυθμού και της αγγειακής ροής. Η πρόκληση αυτής της τοξικότητας μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω διαφόρων μηχανισμών. Αρχικά η έκθεση στο κάδμιο οδηγεί στην παραγωγή ελεύθερων ριζών, οι οποίες μπορούν να βλάψουν τα κυτταρικά συστατικά, συμπεριλαμβανομένων των λιπιδίων, των πρωτεϊνών και του DNA (Chen et al., 2015). Επίσης μπορεί να επάγει στρες στο ενδοπλασματικό δίκτυο διαταράσσοντας την αναδίπλωση και την ομοιόσταση των πρωτεϊνών, οδηγώντας τελικά στην ενεργοποίηση της απόκρισης των μη αναδιπλωμένων πρωτεϊνών (Unfolded protein response, UPR). Αυτή η απόκριση μπορεί να προκαλέσει απόπτωση στα προσβεβλημένα κύτταρα, ιδίως στα καρδιομυοκύτταρα, όπου η έκθεση σε αυτό έχει συνδεθεί με διαταραγμένο ενεργειακό μεταβολισμό και κυτταρικό θάνατο (Chen et al., 2015). Το κάδμιο αναστέλλει την κυτταρική σηματοδότηση AKT/mTOR επηρεάζοντας τον μεταβολισμό της γλυκόζης και την παραγωγή ενέργειας. Έτσι η χρόνια έκθεση σε κάδμιο οδηγεί σε αυξημένη κυτταρική απόπτωση μέσω της ενεργοποίησης κασπασών και άλλων πρωτεϊνών που εμπλέκονται στον κυτταρικό θάνατο (Chen et al., 2015).



Εικόνα 2 : Πρόκληση ενδοπλασματικού stress και κυτταρικός θάνατος μυοκαρδιακών κυττάρων.

Η έκθεση σε κάδμιο προκαλεί σημαντική μείωση της δραστηριότητας βασικών αντιοξειδωτικών ενζύμων, όπως η δισμουτάση υπεροξειδίου (SOD), η καταλάση (CAT), η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) και μείωση των επιπέδων της γλουταθειόνης (GSH). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την υπερπαραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου οι οποίες οδηγούν σε βλάβη βιολογικών μορίων. Παράλληλα, το κάδμιο ενεργοποιεί φλεγμονώδες μονοπάτια, κυρίως μέσω της ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB ο οποίος προάγει την έκφραση προφλεγμονωδών κυτοκινών όπως TNF-α, IL-1β και η IL-6. Η χρόνια φλεγμονή που προκύπτει από αυτή τη διαδικασία συμβάλλει στην περαιτέρω καταστροφή και δυσλειτουργία οργάνων στόχων (Das et al., 2019).

Μέσω των παραπάνω μηχανισμών η παρουσία τοξικών επιπέδων καδμίου στον οργανισμό έχει πολυοργανικές επιπτώσεις. Οι νεφροί αποτελούν έναν από τους πρωταρχικούς στόχους βιοσυσσώρευσής του, οδηγώντας σε νεφρική δυσλειτουργία και βλάβη. Η επαγόμενη από κάδμιο νεφροτοξικότητα ακολουθείται από

σωληναριακή, πειραματική βλάβη και μεταβολές στους δείκτες νεφρικής λειτουργίας (Farhan & Jasim, 2020).

Το ήπαρ και το αναπαραγωγικό σύστημα αποτελούν επίσης βασικούς στόχους της τοξικότητας του. Στο ήπαρ, αναστέλλει τη δράση της γλουταθειόνης, μιας βασικής αντιοξειδωτικής ουσίας, μειώνοντας την ικανότητα αποτοξίνωσης και οδηγώντας σε ηπατοκυτταρική βλάβη. Η ενεργοποίηση φλεγμονωδών κυτταροκινών συμβάλλει περαιτέρω στην πρόκληση ηπατικής ίνωσης. (Das et al., 2019). Όσον αφορά το αναπαραγωγικό σύστημα, έχει την τάση να συσσωρεύεται στους όρχεις, επηρεάζοντας αρνητικά τα κύτταρα Leydig, τα οποία είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση τεστοστερόνης. Επιπλέον, ιστολογικές μελέτες έχουν δείξει αλλοιώσεις του αίματο-ορχικού φραγμού, επιτρέποντας την ανοσολογική προσβολή του σπερματικού ιστού (Das et al., 2019). Παράλληλα, στις γυναίκες, το κάδμιο παρεμβαίνει στην έκκριση των οιστρογόνων και της προγεστερόνης, διαταράσσοντας την ωθυλακιογένεση και κατά συνέπεια τη γονιμότητα (Maretta et al., 2022).

C. Υδράργυρος (Hg)

Ο υδράργυρος αποτελεί έναν από τους πιο επικίνδυνους περιβαλλοντικούς ρύπους λόγω υψηλής τοξικότητας και κινητικότητας του στα οικοσυστήματα. Η έκθεση μπορεί να προκύψει τόσο από φυσικές (π.χ. ηφαίστεια, σεισμοί, διάβρωση) όσο και από ανθρωπογενείς πηγές όπως καύση ορυκτών καυσίμων, η μεταλλουργία και η βιομηχανία. Εκπέμπεται κυρίως ως μεταλλικός ατμός (Hg^0), κυκλοφορεί στην ατμόσφαιρα και επιστρέφει στο έδαφος και το νερό μέσω της βροχόπτωσης, συμμετέχοντας έτσι σε ένα δυναμικό παγκόσμιο κύκλο ρύπανσης (Klassen et al., 2015).

Ο υδράργυρος μπορεί να εισέλθει στον οργανισμό με διάφορους τρόπους όπως μέσω της επαφής με το δέρμα, της κατάποσης ή της εισπνοής. Στη φύση υπάρχει σε τρεις κύριες μορφές :

- στοιχειακός υδράργυρος (Hg^0),
- ανόργανες ενώσεις υδράργυρου (π.χ. χλωριούχος υδράργυρος)
- οργανικές ενώσεις υδραργύρου (κυρίως μεθυλδράργυρος).

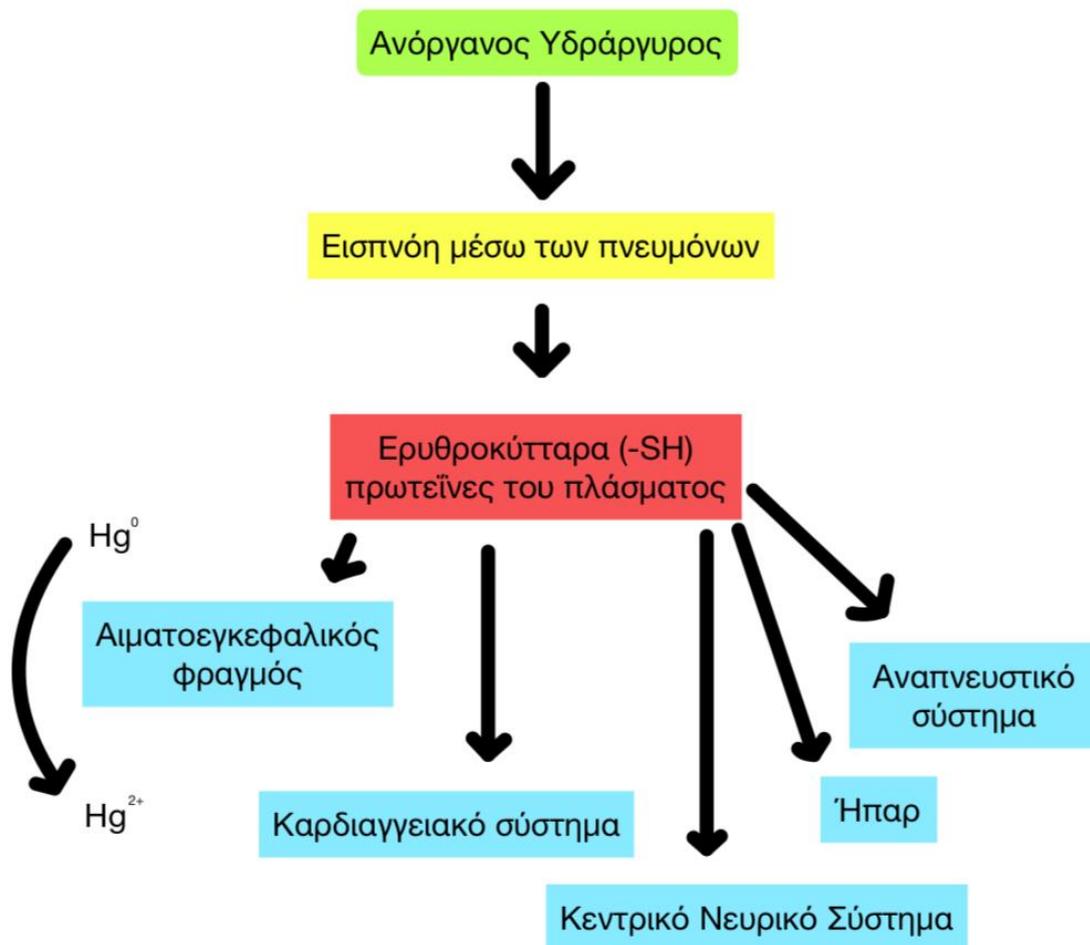
Η βιολογική συμπεριφορά, η φαρμακοκινητική και η κλινική σημασία των διαφόρων μορφών του ποικίλουν ανάλογα με τη χημική τους δομή. (Bernhofs et al., 2011).

Ο στοιχειακός υδράργυρος (Hg^0), σε υγρή μορφή, απορροφάται ελάχιστα από τον οργανισμό και παρουσιάζει περιορισμένο κίνδυνο. Ωστόσο, όταν εξατμίζεται εισπνέεται εύκολα και απορροφάται μέσω των πνευμόνων, προκαλώντας βλάβες σε διάφορα όργανα. Λόγω της διαπερατότητας του, μπορεί να περάσει κυτταρικές μεμβράνες, καθώς και τους αιματοεγκεφαλικούς και πλακούντιακους φραγμούς, φτάνοντας σε ευαίσθητους ιστούς. Στον οργανισμό μετατρέπεται σε ανόργανες μορφές (Hg^+ και Hg^{2+}) οι οποίες έχουν περιορισμένη ικανότητα διάχυσης. Ο στοιχειακός υδράργυρος χρησιμοποιείται σε θερμομέτρα, πιεσόμετρα και στη βιομηχανία λόγω των φυσικοχημικών του ιδιοτήτων. Εμφανίζει ευρεία χρήση στη μεταλλουργία, την εξόρυξη χρυσού και την οδοντιατρική λόγω της εύκολης δημιουργίας κραμάτων που ονομάζονται αμαλγάματα. Κατά την καύση τους εκλύονται τοξικοί ατμοί, στους οποίους εκτίθενται οι εργάτες χωρίς προστασία. Η απομάκρυνση οδοντικών σφραγισμάτων αμαλγάματος αυξάνουν την συγκέντρωση του υδραργύρου στο αίμα και πλάσμα (Fernandes et al., 2012)

Ο ανόργανος υδράργυρος όπως ο χλωριούχος υδράργυρος (HgCl_2), είναι εξαιρετικά διαβρωτικός και τοξικός. Στο αίμα ο Hg^{2+} δεσμεύεται σε ομάδες θειόλης των ερυθροκυττάρων, της γλουταθειόνης ή της μεταλλοθειονίνης. Συσσωρεύεται στον πλακούντα, στους εμβρυϊκούς ιστούς και στο αμνιακό υγρό. Αν και δεν διαπερνά αποτελεσματικά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, μπορεί να φτάσει στον εγκέφαλο μέσω σύνδεσης με κυστεΐνη. Η οξεία έκθεση σε ανόργανο υδράργυρο μπορεί να μειώσει τη μυοκαρδιακή συσταλτικότητα αναστέλλοντας την ενεργότητα του συστήματος μυοσΐνης-ΑΤΡασης. Η χρόνια έκθεση αυξάνει την αγγειακή αντίσταση και σχετίζεται με την υπέρταση. Παράλληλα, έχει φανεί ότι προάγει την παραγωγή ελεύθερων ριζών, μέσω ενεργοποίησης NADPH, οξειδάσης (Fernandes et al., 2012).

Η πλειονότητα των διαθέσιμων δεδομένων για τα οργανικά παράγωγα του υδραργύρου αφορά τον μεθυλδράργυρο (CH_3Hg^+), ο οποίος αποτελεί κύρια πηγή ανθρώπινης έκθεσης και ανιχνεύεται φυσικά στα ψάρια. Είναι σχετικά σταθερός και απορροφάται αποτελεσματικά περίπου σε ποσοστό 80% τόσο μέσω των πνευμόνων όσο και από το έντερο και το δέρμα. Ο μεθυλδράργυρος προσδένεται σε ομάδες θειόλης, ιδιαίτερα στην κυστεΐνη, και διανέμεται σε όλο το σώμα με την κατανομή του στους ιστούς να ολοκληρώνεται εντός τεσσάρων ημερών. Ιδιαίτερα υψηλή συγκέντρωση παρατηρείται στον εγκέφαλο, το ήπαρ, τα νεφρά, τον πλακούντα, το

έμβρυο και τα περιφερικά νεύρα. Σταδιακά απομεθυλιώνεται και μετατρέπεται σε ανόργανο υδράργυρο. Ο χρόνος ημιζωής του στον άνθρωπο είναι περίπου εβδομήντα μέρες με το 90% να αποβάλλεται μέσω των κοπράνων. Ένα μικρό ποσοστό αποβάλλεται και μέσω του μητρικού γάλακτος ώστε να εκτίθεται ακόμα και στα νεογέννητα. Ο διμεθυλυδράργυρος απορροφάται εξαιρετικά εύκολα από το δέρμα και έχει αναφερθεί θάνατος επιστήμονα που τον μελετούσε μετά από ελάχιστη δερματική επαφή (Bernhoft et al., 2011).



Εικόνα 3 : Πορεία βιοκατανομής ανόργανου υδραργύρου

D. Αρσενικό

Το αρσενικό είναι και αυτός ένας συνηθισμένος παράγοντας δηλητηρίασης, κυρίως λόγω της υψηλής τοξικότητας και της εκτεταμένης χρήσης σε διάφορες βιομηχανικές εφαρμογές. Ανήκει στην κατηγορία των μεταλλοειδών και εμφανίζεται στη φύση σε διάφορες αλλοτροπικές μορφές. Μπορεί να υπάρχει είτε σε ανόργανη είτε σε οργανική μορφή με τις ανόργανες να παρουσιάζουν την μεγαλύτερη τοξικότητα. Από αυτές οι πιο διαδεδομένες είναι το πεντοξείδιο του αρσενικού (As_2O_5), η αρσίνη (AsH_3) και το τριοξείδιο του αρσενικού (As_2O_3), γνωστό και ως ποντικοφάρμακο (Klassen et al., 2015). Οι κύριες πηγές έκθεσης σε αρσενικό είναι μέσω του νερού, των τροφών, των θαλασσινών και του αέρα. Η τοξικότητα των ενώσεων αρσενικού επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες με τους πιο σημαντικούς να είναι η διαλυτότητα και η οξειδωτική βαθμίδα (Klassen et al., 2015).

Η οξεία έκθεση μπορεί να προκαλέσει εμετό, κοιλιακό άλγος, διάρροια, μυϊκές κράμπες και σε σοβαρές περιπτώσεις, πολυοργανική ανεπάρκεια και θάνατο (Ratnaik et al., 2003). Η χρόνια έκθεση, κυρίως μέσω μολυσμένου νερού ή τροφίμων, σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα, νευροτοξικότητα, νεφροτοξικότητα, ηπατοπάθειες, διαβήτη τύπου 2 και εμφάνιση νεοπλασιών (Kaur et al., 2011). Ως προς την τοξικότητα στο καρδιαγγειακό σύστημα, επάγει το οξειδωτικό στρες, αυξάνει τα επίπεδα φλεγμονωδών κυτταροκινών και διαταράσσει την αγγειακή λειτουργία μέσω αναστολής του ενδοθηλιακού ενζύμου eNOS και ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης MLCK, οδηγώντας σε υπέρταση, αθηροσκλήρωση και αρρυθμίες (Kaur et al., 2011). Όσο αφορά τη νευροτοξικότητα το αρσενικό διαπερνά εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό προκαλώντας οξειδωτική βλάβη, διαταραχές στους νευροδιαβιβαστές (ντοπαμίνη, σεροτονίνη, GABA), αποδιοργάνωση του κυτταροσκελετού και εκφυλισμό νευρώνων, με συμπτώματα όπως γνωσιακή έκπτωση, περιφερική νευροπάθεια και παρόμοια εικόνα με Parkinson (Kaur et al., 2011). Το αρσενικό συγκεντρώνεται στα νεφρά και το ήπαρ, προκαλώντας νέκρωση, απόπτωση και φλεγμονώδη απόκριση μέσω ενεργοποίησης των μονοπατιών MAPK και JNK. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει η πρόκληση διαβήτη τύπου 2, όπου το αρσενικό μειώνει την έκφραση του υποδοχέα PPAR- γ , αναστέλλει την παραγωγή ινσουλίνης και παρεμβαίνει στη φωσφορυλίωση της Akt, οδηγώντας σε αντίσταση στην ινσουλίνη και διαταραχή του μεταβολισμού της γλυκόζης (Kaur et al., 2011). Τέλος η τρισθενής μορφή του αρσενικού (As^{3+}), προκαλεί βλάβες στο DNA μέσω πρόκλησης μεταλλάξεων,

διαταραχή μεθυλίωσης του DNA, ενεργοποίηση πρωτοογκονιδίων (π.χ c-fos, c-jun) και φλεγμονώδεις αποκρίσεις που συμβάλλουν στην εμφάνιση νεοπλασιών (Kaur et al., 2011).

E. Χρόμιο (Cr)

Το χρώμιο, ως μέταλλο της ομάδας των μεταβατικών στοιχείων, απαντάται ευρέως στη φύση και χρησιμοποιείται εκτενώς στη βιομηχανία λόγω της αντοχής του στη διάβρωση και της υψηλής σταθερότητάς των ενώσεων του. Παρότι ορισμένες μορφές του -όπως το τρισθενές χρώμιο- θεωρούνται απαραίτητες σε μικρές ποσότητες για τον ανθρώπινο μεταβολισμό, άλλες μορφές, όπως το χρώμιο VI, είναι εξαιρετικά τοξικές και έχουν συσχετιστεί με σοβαρές οξείες και χρόνιες παθήσεις. Το Cr(VI) είναι ιδιαίτερα βιοδιαθέσιμο και διεισδύει εύκολα στους ιστούς, προκαλώντας κυτταρική βλάβη κυρίως μέσω της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου ROS, οι οποίες οδηγούν σε οξειδωτικό στρες, φλεγμονή και γενετική αστάθεια (Reif et al., 2024). Η τοξικότητα του εκδηλώνεται μέσω ενός ευρέος φάσματος παθολογικών καταστάσεων:

- Πνευμονοπάθειες (όπως καρκίνος του πνεύμονα)
- Δερματικές αλλεργίες
- Δυσλειτουργία ήπατος και νεφρών
- Διαταραχές νευρικού συστήματος
- Τοξικές επιδράσεις στην αναπαραγωγική και εμβρυική ανάπτυξη

Η απορρόφηση του Cr(VI) γίνεται από το δέρμα, τους πνεύμονες και τον γαστρεντερικό σωλήνα και ακολουθεί διανομή του σε ζωτικά όργανα ενώ η αποβολή του γίνεται μέσω κυρίως του νεφρικού συστήματος. Η χρόνια έκθεση, ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, μπορεί να οδηγήσει σε καρκινογένεση, με το Cr(VI) να έχει χαρακτηριστεί από τον παγκόσμιο οργανισμό υγείας και άλλες ρυθμιστικές αρχές ως καρκινογόνος ουσία κατηγορίας 1 (International Agency for Research on Cancer, 2023). Παράλληλα, αν και το Cr(III) θεωρείται απαραίτητο ιχνοστοιχείο, η χρήση του σε συμπληρώματα διατροφής έχει τεθεί υπό αμφισβήτηση, καθώς υπάρχουν ενδείξεις για πιθανή γονοτοξικότητα και μεταλλαξιογόνο δράση του σε υψηλές δόσεις ή υπό ορισμένες συνθήκες (Reif et al., 2024).

F. Νικέλιο (Ni)

Το νικέλιο είναι ένα μέταλλο με ποικίλες βιομηχανικές χρήσεις, αλλά η έκθεση σε αυτό, ιδιαίτερα στις υψηλές συγκεντρώσεις ή συγκεκριμένες μορφές, μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικές τοξικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία (Klassen et al., 2015). Αρχικά, το νικέλιο αποτελεί έναν από τους πιο συχνούς αλλεργιογόνους παράγοντες, προκαλώντας τοξικές αντιδράσεις κυρίως μέσω του δέρματος. Η δερματική επαφή με αντικείμενα που το περιέχουν - όπως κοσμήματα ή νομίσματα - μπορεί να οδηγήσει σε δερματίτιδα εξ επαφής. Η αντίδραση αυτή εκδηλώνεται με συμπτώματα όπως ερυθρότητα, κνησμό, εξάνθημα και φουσκάλες τα οποία εμφανίζονται συνήθως στις περιοχές που ήρθε σε επαφή με το δέρμα (GOV.UK, 2025).

Στη συνέχεια, πρέπει να σημειωθεί ότι η εισπνοή ενώσεων νικελίου, ιδίως σε επαγγελματικά περιβάλλοντα σχετίζεται σημαντικά με την ανάπτυξη αναπνευστικών προβλημάτων. Οι επιδράσεις περιλαμβάνουν ρινίτιδα, ιγμορίτιδα, άσθμα, χρόνια βρογχίτιδα, εμφύσημα και σε περιπτώσεις παρατεταμένης έκθεσης, ακόμη και διάτρηση του ρινικού διαφράγματος (GOV.UK, 2025). Η οξεία τοξικότητά του είναι επίσης ιδιαίτερα επικίνδυνη, μέσω της εισπνοής της πτητικής και εξαιρετικά τοξικής ένωσης, καρβονύλιο του νικελίου ($\text{Ni}(\text{CO})_4$). Η έκθεση σε αυτήν μπορεί να προκαλέσει άμεσα συμπτώματα όπως ερεθισμό του αναπνευστικού συστήματος, ζάλη και πονοκέφαλο, ενώ καθυστερημένες επιδράσεις περιλαμβάνουν πνευμονικό οίδημα, πνευμονία και σε σοβαρές περιπτώσεις θάνατο (Cunningham, 2021). Επιπλέον η οξεία κατάποση ενώσεων του μπορεί να προκαλέσει ναυτία, έμετο, διάρροια και πονοκέφαλο.

Τέλος, ιδιαίτερη σημασία έχει η καρκινογόνος δράση του νικελίου. Οι ενώσεις του έχουν ταξινομηθεί από τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC) ως καρκινογόνες κατηγορίας 1 για τον άνθρωπο, βάσει επαρκών στοιχείων από επιδημιολογικές και πειραματικές μελέτες (International Agency for Research on Cancer, 2023). Έχουν συσχετιστεί κυρίως με καρκίνους της ρινικής κοιλότητας, παραρρινίων κόλπων και των πνευμόνων (Kuper et al., 2000) Αντίθετα, το μεταλλικό νικέλιο έχει ταξινομηθεί ως πιθανώς καρκινογόνος παράγοντας κατηγορίας 2B (International Agency for Research on Cancer, 2023). Αν και το μεταλλικό νικέλιο δεν φαίνεται να προκαλεί καρκινογένεση, οι σουλφιδικές και οξειδωτικές ενώσεις του θεωρούνται καρκινογόνες. Η περίπτωση των διαλυτών ενώσεων παραμένει

αμφιλεγόμενη καθώς μελέτες σε ζώα δεν έδειξαν καρκινογόνο δράση, ωστόσο επιδημιολογικά δεδομένα σε εργαζομένους, ιδίως καπνιστές, δείχνουν πιθανή συσχέτιση με καρκίνο του πνεύμονα. Σύμφωνα με το μοντέλο βιοδιαθεσιμότητας των ιόντων νικελίου, το θειϊκό νικέλιο εμφανίζει χαμηλή καρκινογόνο ικανότητα, εξαιτίας της ταχείας εξωκυτταρικής διάλυσης, του περιορισμένου ενδοκυττάριου μεταβολισμού και κατά συνέπεια, της χαμηλής συγκέντρωσης ιόντων νικελίου στον πυρήνα των επιθηλιακών κυττάρων του πνεύμονα. Παρόλα αυτά δεν αποκλείεται το ενδεχόμενο οι διαλυτές μορφές να ενισχύουν την καρκινογένεση των αδιάλυτων ενώσεων μέσω φλεγμονωδών και πολλαπλασιαστικών μηχανισμών (Nickel Institute, 2018). Επιπλέον, η Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος των ΗΠΑ έχει ταξινομήσει την σκόνη διωλστηρίων νικελίου και τα σουλφίδια του νικελίου ως καρκινογόνες ουσίες κατηγορίας A, ενώ το καρβονύλιο του νικελίου ως κατηγορία 2B (EPA, 2000).

G. Θάλλιο (Tl)

Το θάλλιο είναι ένα άχρωμο, άοσμο και εξαιρετικά τοξικό μέταλλο το οποίο, παρά τις περιορισμένες βιομηχανικές του εφαρμογές σήμερα, εξακολουθεί να αποτελεί σημαντική απειλή για τη δημόσια υγεία όταν προκύψει έκθεση. Η οξεία ή χρόνια δηλητηρίαση από θάλλιο μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές κλινικές καταστάσεις, με υψηλό κίνδυνο μόνιμων νευρολογικών βλαβών ή και θανάτου. Η διάγνωση είναι δύσκολη λόγω της μη ειδικής αρχικής συμπτωματολογίας, ενώ η θεραπεία εξαρτάται από την έγκαιρη αναγνώριση και απομάκρυνση του τοξικού παράγοντα. Το θάλλιο απορροφάται εύκολα από το δέρμα, το αναπνευστικό και το γαστρεντερικό σύστημα και κατανέμεται ταχέως σε όλο το σώμα, προσβάλλοντας κυρίως το νευρικό σύστημα, το ήπαρ, τα νεφρά και το δέρμα. Το μέταλλο δεν μεταβολίζεται και παρουσιάζει μακρά ημιζωή η οποία μπορεί να φτάσει ή και να ξεπεράσει τις τριάντα ημέρες. Η απέκκριση γίνεται κυρίως από τα ούρα, για αυτό και η μέτρηση της συγκέντρωσης θαλλίου σε ούρα 24ωρου αποτελεί την πιο αξιόπιστη μέθοδο διάγνωσης. Η τοξικότητα του σχετίζεται με την ικανότητά του να αντικαθιστά το κάλιο στους κυτταρικούς μηχανισμούς, ιδίως στην αντλία Na^+/K^+ -ΑΤΡάση, και να συνδέεται με σουλφυδρυλομάδες στις μιτοχονδριακές μεμβράνες, προκαλώντας μειωμένη παραγωγή ενέργειας, κυτταρικό θάνατο και νευροεκφυλιστικές βλάβες (Kemnic & Coleman, 2019).

Τα συμπτώματα εμφανίζονται σε φάσεις με χαρακτηριστική χρονική ακολουθία:

- Πρώιμη φάση (3-72 ώρες)
- Μέση φάση (5-14 ημέρες)
- Όψιμη φάση (15-30 ημέρες)
- Χρόνια φάση (>30 ημέρες)

Η κλινική έκφραση της δηλητηρίασης από θάλλιο ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των ασθενών, ανάλογα με τη δόση, τη χρονική διάρκεια και την ατομική ευαισθησία. Ακολουθούν δυο ενδεικτικές περιπτώσεις που αναδεικνύουν το εύρος των εκδηλώσεων και των θεραπευτικών αποτελεσμάτων (Kemnic & Coleman, 2019).

Στην πρώτη μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2021 ένας 43χρονος άνδρας υπέστη δηλητηρίαση από θάλλιο σε δυο διαφορετικές χρονικές στιγμές, ως αποτέλεσμα εγκληματικής ενέργειας. Αρχικά, τα συμπτώματα του εκδηλώθηκαν με γαστρεντερικές διαταραχές και ακολούθησαν νευρολογικές εκδηλώσεις, οι οποίες λανθασμένα αποδόθηκαν σε διαβητική νευροπάθεια και σύνδρομο Guillain–Barré. Η ορθή διάγνωση τέθηκε μόνο μετά από την εμφάνιση εκτεταμένης αλωπεκίας και αισθητικοκινητικών διαταραχών. Ο ασθενής έλαβε θεραπεία με Prussian Blue, με σημαντική βελτίωση των συστηματικών συμπτωμάτων, ωστόσο κατά την εξαετή παρακολούθηση παρέμειναν νευρολογικά κατάλοιπα (μειωμένη μυϊκή ισχύς στα κάτω άκρα και ήπια γνωστική διαταραχή). Η περίπτωση αυτή υπογραμμίζει την πιθανότητα μόνιμων νευρολογικών βλαβών, ακόμα και μετά από θεραπεία και αποκατάσταση των υπόλοιπων συστημάτων (Liu et al., 2021).

Στην δεύτερη περίπτωση μια 51χρονη η γυναίκα προσήλθε με επίμονη μυαλγία, αδυναμία, ζάλη και εμέτους, οι οποίοι εξελίχθηκαν σε οξεία ηπατική ανεπάρκεια και ήπια εγκεφαλοπάθεια. Η φυσική εξέταση ανέδειξε γενικευμένη αλωπεκία, υπερκεράτωση πελμάτων και αισθητικοκινητική υπολειτουργία. Εργαστηριακά διαπιστώθηκε αυξημένο θάλλιο στα ούρα (540 μg/g Cr). Η ασθενής αφού έλαβε διαφορετική θεραπεία από τον πρώτο ασθενή, με D-πενικιλλαμίνη, εντός 6 μηνών επήλθε πλήρης υποχώρηση των συμπτωμάτων και τα επίπεδα του θαλλίου επέστρεψαν εντός φυσιολογικών ορίων (Jimenez et al., 2022).

3.5 Ανάλυση Βιολογικών Υγρών για την Ανίχνευση Τοξικών Ουσιών και Μετάλλων

Η τοξικολογική εξέταση βιολογικών υλικών αποτελεί βασικό εργαλείο στην ιατρική έρευνα και την τοξικολογία για την αξιολόγηση της έκθεσης σε τοξικές ουσίες, συμπεριλαμβανομένων των βαρέων μετάλλων. Τα βιολογικά υγρά προσφέρουν άμεσες πληροφορίες για τη συγκέντρωση, τον μεταβολισμό και την αποβολή διαφόρων ενώσεων στον ανθρώπινο οργανισμό. Ανάλογα με τη φύση της ουσίας και την οδό της έκθεσης, επιλέγονται διαφορετικά υγρά για τις αναλυτικές μετρήσεις (Zajac, 2020).

Το αίμα αποτελεί το πιο ευρέως προς χρήση βιολογικό υγρό, καθώς παρέχει πλούσιες πληροφορίες για τη φυσιολογική και παθολογική κατάσταση του οργανισμού, ενώ η συλλογή του απαιτεί σχετικά μικρή επεμβατικότητα (Murphy, 2023). Αφού συλλεχθεί, το αίμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε ως ολικό αίμα, είτε ως πλάσμα, είτε ως ορός, ανάλογα με τον σκοπό της ανάλυσης, με τον ορό να αποτελεί την συχνότερη επιλογή στις κλασσικές εργαστηριακές εξετάσεις (Murphy, 2023). Για την απομόνωση του ορού, το δείγμα αίματος αφήνεται να πήξει σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 20-30 λεπτά και στη συνέχεια υποβάλλεται σε φυγοκέντρηση. Ο ορός είναι το υπερκείμενο διαυγές υγρό που παραμένει στην επιφάνεια μετά την πήξη και τον διαχωρισμό των κυτταρικών στοιχείων. Η συλλογή του πραγματοποιείται συνήθως σε ειδικό σωληνάριο με κίτρινο πώμα, το οποίο περιέχει γέλη διαχωρισμού. Η γέλη αυτή λειτουργεί ως φυσικός φραγμός, διαχωρίζοντας πλήρως τον ορό από τα κυτταρικά συστατικά κατά τη φυγοκέντρηση. Σημαντικό χαρακτηριστικό του ορού είναι ότι δεν περιέχει ινωδογόνο. Αντίθετα, όταν στόχος είναι η απομόνωση πλάσματος, χρησιμοποιείται σωληνάριο με μωβ πώμα, το οποίο περιέχει την αντιπηκτική ουσία EDTA. Το EDTA εμποδίζει την πήξη του αίματος και μετά από τη φυγοκέντρηση, το πλάσμα απομονώνεται ως υπερκείμενο υγρό, το οποίο σε αντίθεση με τον ορό περιέχει ινωδογόνο και άλλους παράγοντες πήξης, γεγονός που το καθιστά χρήσιμο σε διαφορετικού τύπου ανάλυση (Murphy, 2023).

Ο προσδιορισμός της έκθεσης σε βαρέα μέταλλα μπορεί να γίνει είτε άμεσα, μέσω της συγκέντρωσης του μετάλλου στον οργανισμό, είτε έμμεσα με την αναγνώριση χαρακτηριστικών κλινικών σημείων. Η παρουσία βασιόφιλων κηλίδων σε επίχρισμα αίματος σε συνδυασμό με μπλε γραμμές στα ούλα μπορεί να εγείρει υποψία για χρόνια τοξικότητα από μόλυβδο. Ωστόσο, απαιτείται επιβεβαίωση μέσω ποσοτικού

προσδιορισμού του μετάλλου με εξειδικευμένες μεθόδους ανάλυσης (Wani et al., 2015). Συχνά οι αιματολογικές εξετάσεις συνδυάζονται με ανάλυση ούρων για πληρέστερη εκτίμηση της έκθεσης (Barlow et al., 2023). ε (Rodushkin & Ödman, 2001). Η συλλογή πρέπει να γίνεται με ειδικά σωληνάρια για ιχνοστοιχεία, όπως αυτά με το μπλε πώμα, ενώ για την ανίχνευση μόλυβδου μπορούν να χρησιμοποιηθούν ειδικά σωληνάρια χωρίς μόλυβδο με καφέ πώμα. Τα δείγματα μπορούν να φυλάσσονται σε ψύξη ώστε να διατηρηθούν σταθερά μέχρι την ανάλυση (Boeynaems et al., 2004)

Η ανάλυση αίματος δεν είναι κατάλληλη για τον προσδιορισμό του αρσενικού καθώς απομακρύνεται ταχέως από την κυκλοφορία και αποθηκεύεται στους ιστούς. Έτσι, τα ούρα αποτελούν προτιμώμενο δείγμα για τον προσδιορισμό του αρσενικού, ιδίως σε χρόνιες ή καθυστερημένες εκθέσεις (Takayama et al., 2021). Για την ανίχνευση υδραργύρου, χρησιμοποιούνται και αίμα και ούρα, με τα ούρα να είναι κατάλληλα για μακροχρόνια έκθεση σε στοιχειακό ή ανόργανο υδράργυρο, ενώ το αίμα να αποκαλύπτει πρόσφατη έκθεση (Bernhoft, 2011). Για το χρώμιο, χρησιμοποιούνται τα ούρα για την παρακολούθηση βραχυπρόθεσμης έκθεσης, ενώ το αίμα ή ορός είναι κατάλληλα για ειδικές περιπτώσεις όπως η αξιολόγηση εμφυτευμάτων αρθροπλαστικής (Verdonck et al., 2021).

Αξίζει να σημειωθεί ότι ορισμένα υλικά συλλογής μπορεί να επηρεάσουν την ακρίβεια των μετρήσεων. Για παράδειγμα καθετήρες από καουτσούκ μπορεί να αυξήσουν ψευδώς τα επίπεδα καδμίου, ενώ πρέπει να αποφεύγονται και έντονα χρωματισμένα πλαστικά δοχεία, καθώς συχνά οι χρωστικές τους περιέχουν κάδμιο (Genchi et al., 2020). Επιπλέον, ιδιαίτερη σημασία έχει η σωστή διαδικασία λήψης του αίματος, καθώς από αυτήν εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Είναι τεκμηριωμένο ότι η παρατεταμένη περίδεση του βραχίονα κατά την αιμοληψία μπορεί να προκαλέσει αιμοσυμπύκνωση, οδηγώντας σε ψευδώς αυξημένες συγκεντρώσεις μετάλλων, πρωτεϊνών και άλλων βιοχημικών παραμέτρων στο αίμα (Murphy, 2023). Επιπρόσθετα, η παρατεταμένη ορθοστασία πριν την αιμοληψία μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τη συγκέντρωση διαφόρων ουσιών στο αίμα, λόγω μεταβολών στην κατανομή υγρών και στην αιμοδυναμική. Για τον λόγο αυτό, συνιστάται το άτομο να παραμένει καθιστό για 20 ή 30 λεπτά πριν από τη λήψη αίματος, για να διασφαλιστεί ομοιόμορφη κατανομή των συστατικών του αίματος και να επιτευχθούν όσο το δυνατόν ακριβέστερες μετρήσεις (Murphy, 2023).

Τα ούρα αποτελούν ένα από τα πιο χρήσιμα βιολογικά δείγματα για την εκτίμηση της περιβαλλοντικής και επαγγελματικής έκθεσης σε βαρέα μέταλλα και άλλες τοξικές ενώσεις. Παράγονται καθημερινά σε ποσότητα περίπου 1.5-2 L, με κύριο συστατικό το νερό (95%) και μεταβολικά προϊόντα όπως η ουρία. Η ανάλυση ούρων είναι ασφαλής, μη επεμβατική και επιτρέπει τη συλλογή μεγάλου όγκου δείγματος, κάτι που την καθιστά ιδανική για τοξικολογικές εξετάσεις (Murphy, 2023). Η συγκέντρωση των αναλυτών στα ούρα εξαρτάται σημαντικά από τον βαθμό διούρησης, ο οποίος παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις. Για τον λόγο αυτό τα αποτελέσματα συχνά τυποποιούνται ανά γραμμάριο κρεατίνης, ώστε να εξασφαλίζεται η συγκρισιμότητα και ακρίβεια στα επίπεδα απέκκρισης. Η προτεινόμενη στρατηγική είναι η συλλογή ούρων σε χρονικό διάστημα 24ώρου, ώστε τα αποτελέσματα να εκφράζονται ως ρυθμός απέκκρισης (Murphy, 2023). Για τον υπολογισμό του ρυθμού απέκκρισης της κρεατινίνης ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος τύπος είναι ο παρακάτω :

$$\text{Κάθαρση} = \frac{U_{cr} * V}{S_{cr}} * 1440 \left(\frac{ml}{min} \right)$$

Όπου :

- U_{cr} : Συγκέντρωση κρεατινίνης στα ούρα ($\mu\text{mol/l}$)
- V : Όγκος ούρων 24ώρου
- S_{cr} : συγκέντρωση κρεατινίνης στον ορό ($\mu\text{mol/l}$)
- $1440 \text{ min} = 24\text{h} * 60 \text{ min}$

Η συλλογή ούρων 24ώρου αποτελεί αξιόπιστη μέθοδο διερεύνησης οξείας και χρόνιας έκθεσης για τα περισσότερα μέταλλα ενώ για την οξεία έκθεση μπορεί να γίνει χρήση δειγματοληψίας ούρων επί τόπου, με ταυτόχρονη μέτρηση κρεατινίνης για ορθή ερμηνεία των αποτελεσμάτων (Wang et al., 2016). Η διάγνωση δηλητηρίασης από μέταλλα απαιτεί τη συνδυασμένη αξιολόγηση της κλινικής εικόνας και ενός λεπτομερούς ιστορικού περιβαλλοντικής έκθεσης. Η επιλογή της κατάλληλης εργαστηριακής εξέτασης για κάθε μέταλλο πρέπει να βασίζεται σε συγκεκριμένα συμπτώματα ή ευρήματα, τα οποία υποδεικνύουν έναν πιθανό τοξικό σύνδρομο. Για παράδειγμα, η ανάλυση ούρων για υδράργυρο είναι χρήσιμη στην τεκμηρίωση έκθεσης σε ατμούς στοιχειακού υδράργυρου σε ασθενείς που εμφανίζουν ταυτόχρονα συμπτώματα τρόμου, ευερεθιστότητας, εξάνθημα και ιστορικό διαρροής υδραργύρου στο σπίτι (Zajac, 2020). Ομοίως, μετρήσεις αρσενικού στα ούρα ενδείκνυται σε

περίπτωση έκθεσης από μολυσμένο νερό και όταν συνυπάρχουν γαστρεντερικά συμπτώματα, δερματικές αλλοιώσεις ή περιφερική αισθητικοκινητική νευροπάθεια (Zajac, 2020).

Αν και η τεχνολογία ανάλυσης ούρων έχει εξελιχθεί σημαντικά, επιτρέποντας τον προσδιορισμό ενώσεων με υψηλή ακρίβεια και ευαισθησία, ένα βασικό περιοριστικό στοιχείο είναι ότι για πολλούς βιοδείκτες δεν υπάρχουν επίσημα όρια αναφοράς. Έτσι, η παρουσία τους μπορεί να επιβεβαιώνει έκθεση, αλλά όχι απαραίτητα βαθμό τοξικότητας ή κίνδυνο για την υγεία (Murphy, 2023). Η μη στοχευμένη εξέταση μετάλλων μπορεί να οδηγήσει σε αναίτια ανησυχία, όταν τα επίπεδα είναι ελαφρώς εκτός των εργαστηριακών ορίων, χωρίς κάποια κλινική σημασία. Οι περισσότεροι άνθρωποι εμφανίζουν ανιχνεύσιμα, άλλα χαμηλά επίπεδα μετάλλων στα ούρα, κάτι που είναι αναμενόμενο και συνήθως μη παθολογικό. Επιπλέον, λανθασμένη παραγγελία ή ερμηνεία των εξετάσεων ούρων μπορεί να προκαλέσει παραπλάνηση στη διάγνωση ή αδικαιολόγητο άγχος στην οικογένεια. Αυτό ισχύει ιδιαίτερα σε δειγματολογικά τεστ ούρων στα οποία γίνεται διόρθωση ως προς την κρεατινίνη (Zajac, 2020). Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται στη μέτρηση του αρσενικού όπου πρέπει να ζητείται ανάλυση των εξειδικευμένων μορφών του και όχι απλώς ολικό αρσενικό. Το οργανικό αρσενικό, το οποίο απαντάται φυσιολογικά στα ψάρια και τα θαλασσινά είναι βιολογικά αδρανές και μη τοξικό. Αντίθετα το ανόργανο αρσενικό θεωρείται κλινικά σημαντικό και τοξικό και προέρχεται από μολυσμένα ύδατα και ορισμένα τρόφιμα που έχουν καλλιεργηθεί σε εδάφη πλούσια σε αυτό (Zajac, 2020).

Ο σιέλος είναι ένα ακόμα βιολογικό υγρό το οποίο εκκρίνεται από τους παρωτιδικούς, υπογνάθιους και υπογλώσσιους σιελογόνους αδένες. Ο όγκος του εκκρινόμενου σιέλου και η σύνθεση του εξαρτώνται από την ηλικία, το φύλο και το είδος του διεγερτικού με μέσο όρο ο όγκος να είναι περίπου 1,5-2 L καθημερινά. Το κύριο συστατικό του σιέλου είναι το νερό σε ποσοστό περίπου 99.5%, ενώ το υπόλοιπο είναι στερεά ανόργανα και οργανικά μόρια (Ganong's, 2016). Ο σιέλος είναι ένα υλικό σχετικά εύκολα διαθέσιμο προς εξέταση. Ορισμένες οργανικές και ανόργανες ενώσεις καθώς και φάρμακα απεκκρίνονται με αυτό. Η συγκέντρωση ενός φαρμάκου στο σάλιο αντανακλά τη συγκέντρωσή του στον ορό του κλάσματος που δεν είναι συνδεδεμένο με την πρωτεΐνη μεταφορέα του. Δυστυχώς μόνο λίγα φάρμακα έχουν σταθερή τιμή του συντελεστή κατανομής μεταξύ σιέλου και ορού. Αυτό εξηγεί και την περιορισμένη

χρήση του σιέλου μέχρι στιγμής ως βιολογικό υγρό στην τοξικολογική ανάλυση (Nguyen et al., 2024).

Ένα ακόμα σημαντικό βιολογικό δείγμα προς ανάλυση αποτελούν οι τρίχες της κεφαλής, της μασχάλης και της ηβικής περιοχής. Η ανάλυση τριχών είναι μια μη επεμβατική μέθοδος, που επιτρέπει τη συλλογή δείγματος εύκολα και χωρίς δυσφορία για το άτομο (Kintz, 2017). Η σημαντικότερη αξιοποίηση των τριχών είναι η ικανότητα τους να παρέχουν ένα ευρύ χρονικό παράθυρο ανίχνευσης ουσιών, χάρη στη συνεχή και αργή ανάπτυξη τους – περίπου 1cm ανά μήνα. Καθώς η τρίχα αναπτύσσεται, ουσίες από την κυκλοφορία του αίματος ενσωματώνονται στον θύλακα της τρίχας. Έτσι, δείγμα τρίχας 3-6 cm μπορεί να αποτυπώνει την έκθεση σε ουσίες για τους τελευταίους 3-6 μήνες, προσφέροντας μια εικόνα της χρόνιας ή επαναλαμβανόμενης έκθεσης, σε αντίθεση με το αίμα και τα ούρα που δείχνουν την πιο πρόσφατη έκθεση (Pragst & Balíkova, 2008). Η χρήση των τριχών για την ανίχνευση βαρέων μετάλλων αποτέλεσε μια από τις πρώτες εφαρμογές της διερεύνησης τοξικολογίας τριχών. Μέταλλα όπως το αρσενικό, ο μόλυβδος, το θάλλιο και ο υδράργυρος μπορούν να ανιχνευτούν ακόμα και αιώνες μετά την έκθεση, κάτι που έχει χρησιμοποιηθεί ακόμη και για την εκ των υστέρων διερεύνηση ιστορικών περιπτώσεων δηλητηρίασης (Pragst & Balíkova, 2008). Ωστόσο, η ανάλυση των τριχών εμφανίζει αρκετούς περιορισμούς. Πρώτον οι τρίχες μπορούν να μολυνθούν εξωτερικά από περιβαλλοντικές ουσίες, όπως σκόνη, καπνό ή και καλλυντικά προϊόντα μαλλιών. Αυτό δημιουργεί τον κίνδυνο ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων. Για τον λόγο αυτό, απαιτούνται αυστηρές διαδικασίες καθαρισμού του δείγματος προς ανάλυση, ώστε να διασφαλιστεί ότι ανιχνεύονται ουσίες που έχουν ενσωματωθεί ενδογενώς (Kintz, 2017). Η διάκριση μεταξύ ενεργητικής και παθητικής έκθεσης, ιδίως στα παιδιά, παραμένει δύσκολη. Τέλος, ενώ η ανάλυση είναι ιδανική για την επιβεβαίωση μακροχρόνιας κατανάλωσης, δεν επιτρέπει τον ακριβή προσδιορισμό της δόσολογίας ή της χρονικής στιγμής της μόλυνσης, καθώς οι συγκεντρώσεις των ουσιών στην τρίχα δεν σχετίζονται απαραίτητα με τη δόση που εκτέθηκε το άτομο. (Kintz, 2017)

3.6 Ανάλυση αίματος και ούρων από νεκροτομικό υλικό

Το αίμα και τα ούρα αποτελούν θεμελιώδη δείγματα στην νεκροτομική ανάλυση, με τα περισσότερα πρωτόκολλα τοξικολογικών εξετάσεων μετά θάνατον να τα κατατάσσουν ως πρωτεύοντες πηγές βιολογικών στοιχείων. Σύμφωνα με τις διεθνείς οδηγίες, όταν είναι διαθέσιμα αυτά τα δύο συλλέγονται πάντα πρώτα, εκτός αν είναι αδύνατη η συλλογή τους όπου σε αυτή την περίπτωση εξετάζονται ιστοί όπως εγκέφαλος και ήπαρ (Office of Chief Medical Examiner of New York, 2023). Οι μέθοδοι λήψης δειγμάτων έχουν καθορισμένη σειρά προτεραιότητας, με την λήψη αίματος να γίνεται όσο το δυνατόν συντομότερα – πριν ανοίξει το σώμα- από μηριαία φλέβα, επειδή έτσι ελαχιστοποιείται η αλλοίωση του δείγματος εξασφαλίζοντας αξιόπιστα αποτελέσματα (Argo A. et al., 2022). Σύμφωνα με διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες τοξικολογίας, τα ούρα αποτελούν το καταλληλότερο δείγμα για έλεγχο φαρμάκων και δηλητηρίων, καθώς συσσωρεύουν ουσίες και μεταβολίτες σε συγκεντρώσεις κατά κανόνα υψηλότερες από το αίμα, διευκολύνοντας την ανίχνευση (Stimpfl, T., et al., 2021). Από την άλλη, η ανάλυση αίματος δίνει χαμηλότερες συγκεντρώσεις αλλά αντιπροσωπεύει πιο άμεσο χρονικό πλαίσιο, σε σχέση με τον χρόνο του θανάτου, επιτρέποντας καλύτερη ερμηνεία της συμβολής της τοξικής έκθεσης στο συμβάν (Stimpfl, T., et al., 2021).

Η μεταθανάτια σταθερότητα των δειγμάτων είναι σημαντική αν και περιπλέκεται από την αποσύνθεση του σώματος. Η σύνθεση του μεταθανάτιου αίματος διαφέρει από του ζώντα οργανισμού καθώς συνήθως είναι αιμολυμένο, πλούσιο σε πήγματα, με υψηλότερο ιξώδες και με χαμηλότερο pH (Παπουτσή I., 2020). Η μικροβιακή ζύμωση μπορεί να καταστρέψει ουσίες όπως η κοκαΐνη ή να παράξει άλλες όπως η αιθανόλη, με αποτέλεσμα να εμφανίζονται ουσίες αυξημένες έως και 2 με 10 φορές της προ θανάτου τιμής (Παπουτσή I., 2020). Παρ' όλα αυτά, το αίμα και τα ούρα παραμένουν σχετικά ανθεκτικά και μπορούν να οδηγήσουν σε αξιόπιστες αναλύσεις, αν η λήψη τους γίνει άμεσα και υπάρξει κατάλληλη συντήρηση, όπως χαμηλή θερμοκρασία, σωστά αντιπηκτικά και συντηρητικά, (Argo A. et al., 2022).

Εκτός από την εφαρμογή τους στην εξιχνίαση θανάτου, το αίμα και τα ούρα από νεκρούς αξιοποιούνται σε ποικίλες έρευνες παθολογίας, γενετικής και επιδημιολογίας. Πρωτίστως, αποτελούν πηγή γενετικού υλικού υψηλής ποιότητας καθώς τόσο το DNA του πυρήνα των κυττάρων του αίματος όσο και τα αμινοξέα αυτών

παραμένουν κατάλληλα για ανάλυση γενετικών μεταλλάξεων μετά τον θάνατο. Σε μελέτες μοριακής νεκροτομίας, το αίμα έχει επιτύχει μεγάλο ποσοστό επιτυχίας αλληλούχισης, με χαρακτηριστικό παράδειγμα μια πρόσφατη σειρά 601 περιπτώσεων θανάτων, όπου τα δείγματα αίματος σε EDTA ολοκλήρωσαν επιτυχώς το 95% των μετά θάνατον γενετικών τεστ (Latimer, R. et al., 2022). Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι ιδιαίτερος κρίσιμη για ξαφνικούς αιφνίδιους θανάτους καρδιακής αιτιολογίας (κοιλιακές αρρυθμίες, μυοκαρδιοπάθειες κλπ.), όπου ενοχοποιούνται μονογονιδιακές μεταλλάξεις στα γονίδια των κυττάρων του μυοκαρδίου. Μεταξύ αυτών των περιπτώσεων, το 13-41 % εμφάνιζε τέτοιες μεταλλάξεις που εξηγούσαν τον θάνατο (Latimer, R. et al., 2022).

Τέλος σε επίπεδο επιδημιολογίας, τα νεκροτομικά δείγματα χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο επιπολασμού μολυσματικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Για παράδειγμα, η συστηματική ανίχνευση ικών νουκλεϊκών οξέων σε μεταθανάτιο αίμα μπορεί να ανίχνευση επιδημίες, όπως κατέδειξαν πρόσφατες μελέτες όπου ήταν δυνατή η ανίχνευση μορίων RNA (SARS-CoV-2) ακόμα και αρκετές ημέρες μετά το θάνατο (Chen, R., et al., 2025). Πρόσφατες μετρήσεις συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων και ιχνοστοιχείων σε μεταθανάτιο αίμα και ούρα έχουν εντοπίσει τις φυσιολογικές τιμές αναφοράς, με αποτέλεσμα να είναι δυνατός ο εντοπισμός τοξικών εκθέσεων σε ατομικό και δημογραφικό επίπεδο (Söderberg, C., et al., 2023).

3.7 Επίπεδα βαρέων μετάλλων σε βιολογικά υλικά – εκτίμηση τοξικότητας

Καθώς τα βαρέα μέταλλα έχουν πλέον τεκμηριωθεί για τις τοξικές τους ιδιότητες και την παρουσία τους σε βιολογικά υγρά όπως το αίμα και τα ούρα, είναι ουσιώδες να καθοριστούν τα επίπεδα συγκέντρωσης τους που θεωρούνται τοξικά ή εν δυνάμει επικίνδυνα για τον ανθρώπινο οργανισμό.

1. Μόλυβδος

Όσον αφορά τον μόλυβδο δεν υπάρχει ασφαλές επίπεδο έκθεσης, ιδίως για τα παιδιά. Ακόμη και μικρές ποσότητες μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές και μόνιμες βλάβες, καθώς, έχει την ικανότητα να συσσωρεύεται στο σώμα με την πάροδο του χρόνου (CDC, 2024).

Η έκθεση στον μόλυβδο είναι ιδιαίτερα επικίνδυνη για τα παιδιά κάτω των 6 ετών, λόγω της ταχείας ανάπτυξης του εγκεφάλου και της αυξημένης απορρόφησης του μετάλλου. Η τιμή 3,5 µg/dL στο αίμα παιδιών, αν και δεν θεωρείται ασφαλής, για τον CDC αποτελεί σημείο αναφοράς για την παρακολούθηση αυτών που έχουν εκτεθεί σε υψηλότερα επίπεδα. Ακόμη και σε αυτά τα επίπεδα έχει αναφερθεί μειωμένη γνωσιακή λειτουργία, μαθησιακές δυσκολίες και διαταραχές συμπεριφοράς (CDC, 2024). Τιμή μεγαλύτερη ή ίση των 5 µg/dL είναι ανησυχητική και απαιτεί παρέμβαση για μείωση της έκθεσης. Όσον αφορά τους ενήλικες για τιμές ≥ 10 µg/dL σύγχρονες μελέτες αναδεικνύουν ότι αυξάνεται ο κίνδυνος υπέρτασης, νεφρικής βλάβης, καρδιαγγειακής νόσου και θανάτου (ATSDR, 2020). Σύμφωνα με δημοσίευμα του Kosnett (2007), οι ενδεικτικές κατηγορίες επικινδυνότητας για ενήλικες και εργαζομένους παρουσιάζονται στους παρακάτω δύο πίνακες :

Τιμή (µg/dL)	Δράση/Κίνδυνος
<5	Μη επιβεβαιωμένες βλάβες*
5-9	Απαιτείται περιορισμός έκθεσης για εγκύους
10-19	Μείωση έκθεσης και τακτικός έλεγχος επιπέδων στο αίμα
20-29	Απομάκρυνση από πηγή έκθεσης εάν στον επαναληπτικό έλεγχο η τιμή παραμένει ≥ 20 µg/dL.
30-79	Απομάκρυνση από πηγή έκθεσης. Για επίπεδα άνω των 40 µg/dL απαιτείται ιατρική αξιολόγηση. Για τιμή >50 µg/dL με σημαντικά συμπτώματα απαιτείται χηλική θεραπεία
≥ 80	Άμεση ιατρική αξιολόγηση και παρέμβαση.
*Δεν υπάρχει ασφαλές επίπεδο, οποιαδήποτε ποσότητας μόλυβδου.	

Πίνακας 1: Κατευθυντήριες οδηγίες διαχείρισης επιπέδων μόλυβδου στο αίμα για ενήλικες.

Κατηγορίες έκθεσης	Προτεινόμενες ενέργειες
Εργαζόμενοι με έκθεση σε μόλυβδο	Λήψη ιατρικού ιστορικού και φυσική εξέταση.
Μόλυβδος στο αίμα : < 10 μg/dL	Έλεγχος κάθε μήνα για τους πρώτους 3 μήνες, μετά έλεγχος κάθε 6 μήνες. Αν αύξηση ≥ 5 μg/dL επαναξιολόγηση.
Μόλυβδος στο αίμα : 10-19 μg/dL	Έλεγχος κάθε μήνα για τους πρώτους 3 μήνες, μετά έλεγχος κάθε 3 μήνες.
Μόλυβδος στο αίμα : ≥ 20 μg/dL	Αν επαναληπτική μέτρηση ≥ 20 μg/dL ή πρώτη μέτρηση ≥ 30 μg/dL απαιτείται απομάκρυνση. Επιστροφή στο χώρο εργασίας μετά από 2 μετρήσεις < 15 μg/dL Με ένα μήνα διαφορά

Πίνακας 2: Συστάσεις ιατρικής παρακολούθησης για εργαζομένους με έκθεση σε μόλυβδο.

2. Κάδμιο

Τα επίπεδα καδμίου στο αίμα χρησιμοποιούνται κυρίως για την εκτίμηση πρόσφατης έκθεσης. Σε γενικές γραμμές επίπεδα άνω των 5 μg/L θεωρούνται ανησυχητικά, δεδομένου ότι η χρόνια έκθεση συνδέεται με νεφρική δυσλειτουργία (Δαΐκου et al., 2015). Εργαζόμενοι που εκτίθενται στο κάδμιο έχουν συνήθως συγκέντρωση στο αίμα γύρω στα 1,5 μg/L (Weaver et al., 2011). Τα επίπεδα καδμίου στα ούρα αντανακλούν στην συνολική συσσωρευμένη έκθεση και είναι ιδιαίτερα χρήσιμα για την εκτίμηση μακροχρόνιων κινδύνων. Επίπεδα άνω των 5 μg/g κρεατινίνης σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο νεφρικής βλάβης, όπως πρωτεϊνουρία και δυσλειτουργία της διήθησης (Wikipedia Contributors, 2025).

3. Υδράργυρος

Η συγκέντρωση υδραργύρου στο αίμα αντανακλά κυρίως την πρόσφατη έκθεση. Τιμές κάτω από 5 μg/L θεωρούνται φυσιολογικές, ενώ επίπεδα ίσα ή υψηλότερα των 50 μg/L αποτελούν όριο εμφάνισης συμπτωμάτων τοξικότητας. Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις του στα ούρα, προτιμάται η συλλογή δείγματος 24ώρου, αν και σε αρκετές περιπτώσεις χρησιμοποιείται και πρωινό δείγμα, εκφραζόμενο σε σχέση

με την κρεατινίνη. Φυσιολογικές θεωρούνται τιμές μικρότερες των 2 μg/L. Σε συγκεντρώσεις <20 μg/L δεν παρατηρούνται συνήθως συμπτώματα τοξικότητας. Τιμές μεταξύ 20-100 μg/L σχετίζονται με τρόμο και μείωση της νευρικής αγωγιμότητας. Σε επίπεδα 100-500 μg/L καταγράφονται εμφανή νευροτοξικά σημεία καθώς και πρώιμες ενδείξεις νεφρικής βλάβης, ενώ συγκεντρώσεις >500 μg/L συνδέονται με σοβαρή νευροτοξικότητα, νεφρίτιδα και στοματίτιδα (CDC, 2012).

4. Αρσενικό

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, για την αξιολόγηση πρόσφατης έκθεσης σε αρσενικό προτιμάται η μέτρηση στα ούρα παρά στο αίμα. Στα παιδιά, οι συνήθεις τιμές ολικού αρσενικού κυμαίνονται περίπου στα 5-10 μg/L, ενώ στους ενήλικες χωρίς ιδιαίτερη έκθεση το ανώτατο ο όριο θεωρείται τα 15 μg/L (U.S. Department Of Health And Human Services, 2004 & Skoczynska et al., 2021). Η κατανάλωση θαλασσινών μπορεί να αυξήσει το ολικό αρσενικό στα ούρα σε επίπεδα που φτάνουν ακόμη και σε εκατοντάδες μg/L, χωρίς ωστόσο να συνεπάγεται τοξικότητα. Για τον λόγο αυτό, οι αυξημένες τιμές θα πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή (IOWA Health & Human Services, 2023). Γενικά, συγκεντρώσεις ολικού αρσενικού >50 μg/L υποδηλώνουν σημαντική έκθεση, ενώ επίπεδα > 100 μg/L υποδεικνύουν σοβαρή έκθεση με μεγάλη πιθανότητα εμφάνισης τοξικών εκδηλώσεων που απαιτούν άμεση κλινική παρέμβαση. Τέλος, τιμές >200 μg/L είναι σπάνιες και συνήθως χρίζουν θεραπευτικής αντιμετώπισης με χηλικούς παράγοντες (U.S. Department Of Health And Human Services, 2004).

5. Χρώμιο

Εργαστηριακά, η κατανομή του χρωμίου μεταξύ ερυθρών αιμοσφαιρίων και πλάσματος μπορεί να δείξει τον τύπο έκθεσης. Το Cr(VI) εισέρχεται στα ερυθρά αιμοσφαίρια ενώ το Cr(III) όχι, οπότε αυξημένο χρώμιο στα ερυθρά υποδηλώνει έκθεση σε τοξικό Cr(VI) (ATSDR, 2023) Στον γενικό πληθυσμό, τα μέσα επίπεδα χρωμίου έχουν βρεθεί στα 0.10-0.16 μg/L στον ορό και 0,22 μg/L στα ούρα (ATSDR, 2012). Άλλες πηγές αναφέρουν ότι οι μη καπνιστές ενήλικες έχουν τυπικά 0,4-1,0 μg/L χρώμιο στο αίμα, τιμές που μπορεί να αυξηθούν ελαφρώς σε καπνιστές ή κατοίκους αστικών περιοχών (Health Canada, 2010). Πρακτικά θεωρείται ότι οι μη επαγγελματικά εκτιθέμενοι έχουν συγκεντρώσεις <1 μg/L στο αίμα και <0,5 μg/g

κρεατινίνης στα ούρα (Wilbur et al., 2012). Τα παιδιά γενικά δεν έχουν ξεχωριστές επίσημες τιμές-όρια από διεθνείς οργανισμούς, καθώς θεωρείται ότι οι επιπτώσεις του χρωμίου σε αυτά είναι παρόμοιες με των ενηλίκων (ATSDR, 2013). Τέλος ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας προτείνει ως καθοδηγητικό όριο για την επαγγελματική έκθεση, η απέκκριση χρωμίου να μην υπερβαίνει τα 20 $\mu\text{g/L}$ ούρων στο τέλος της βάρδιας (Ceballos et al., 2017).

6. Νικέλιο

Στον γενικό πληθυσμό χωρίς ιδιαίτερη έκθεση, οι συγκεντρώσεις νικελίου στο αίμα είναι πολύ χαμηλές, με τη μέση τιμή να είναι περίπου 0,3 $\mu\text{g/L}$ σε άτομα χωρίς έκθεση (Gates et al., 2023). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας δεν έχει καθορίσει συγκεκριμένο όριο για το νικέλιο στο αίμα, ωστόσο υπάρχουν κατευθυντήριες τιμές από κλινικά εργαστήρια. Σύμφωνα με το Mayo Clinic, συγκεντρώσεις $\geq 2,0$ ng/mL υποδηλώνουν πιθανή υπερβολική περιβαλλοντική/επαγγελματική έκθεση, ενώ τιμές ≥ 10 ng/mL θεωρούνται τοξικές και ανησυχητικές (Mayo Clinic Laboratories, 2023).

Τα ούρα αποτελούν τον πλέον αξιόπιστο βιοδείκτη πρόσληψης νικελίου, καθώς το μεγαλύτερο μέρος του απορροφήσιμου μετάλλου αποβάλλεται μέσω αυτών (GOV.UK, 2025). Σε άτομα χωρίς ειδική έκθεση, οι συγκεντρώσεις είναι χαμηλές, συνήθως < 2 $\mu\text{g/L}$. Η Γερμανική Επιτροπή Ανθρώπινης Βιοπαρακολούθησης (HBM) έχει ορίσει τιμές αναφοράς τα 4,5 $\mu\text{g/L}$ για παιδιά 3-14 ετών και 3,0 $\mu\text{g/L}$ για ενήλικες μη καπνιστές. Υπέρβαση των επιπέδων αυτών υποδηλώνει έκθεση πέραν του συνήθους περιβαλλοντικού υποβάθρου (Schluz et al., 2011). Τέλος, σύμφωνα με ιατρικές πηγές, συγκεντρώσεις > 10 mg/dL στα ούρα αποτελούν ένδειξη υπερβολικής έκθεσης που χρήζει άμεσης κλινικής αντιμετώπισης (Gates et al., 2023).

7. Θάλλιο

Σε άτομα χωρίς έκθεση, οι συγκεντρώσεις θαλλίου στο αίμα είναι ιδιαίτερα χαμηλές, συνήθως έως 2 $\mu\text{g/L}$ (Mehrpour, 2025). Διεθνείς τοξικολογικές πηγές αναφέρουν ότι οι συγκεντρώσεις > 100 $\mu\text{g/L}$ σχετίζονται με τοξικές επιδράσεις. Εργαστηριακές οδηγίες ορίζουν ότι συγκεντρώσεις > 100 $\mu\text{g/L}$ θεωρούνται τοξικές, ενώ τιμές > 300 $\mu\text{g/L}$ υποδηλώνουν οξεία λήψη. Σε τόσο υψηλά επίπεδα έχουν καταγραφεί

περιστατικά οξείας δηλητηρίασης με πολυοργανική ανεπάρκεια, νευρολογικές βλάβες και αλωπεκία (Arup Laboratories, 2025).

Όσον αφορά τα ούρα, στον μη εκτεθειμένο πληθυσμό οι συγκεντρώσεις θαλλίου είναι εξαιρετικά χαμηλές. Διεθνείς οργανισμοί έχουν θέσει ως ανώτατη αποδεκτή τιμή τα 5 $\mu\text{g/L}$ ή 6,4 $\mu\text{g/g}$ κρεατινίνης. Σύμφωνα με το CDC, κάθε υπέρβαση του ορίου αυτού, υποδεικνύει ασυνήθιστα υψηλή έκθεση και απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση ακόμη και αν δεν υπάρχουν συμπτώματα (Government of Canada, 2024). Επιπλέον, τιμές > 200 $\mu\text{g/L}$ στα ούρα θεωρούνται ενδεικτικές ενεργής δηλητηρίασης (Coleman, 2025). Σε τεκμηριωμένα περιστατικά οξείας δηλητηρίασης έχουν αναφερθεί ουρικές συγκεντρώσεις της τάξης των 5,100-7,200 $\mu\text{g/L}$, επίπεδα που συνοδεύονται από βαριά κλινική εικόνα και αποτελούν επείγουσα ιατρική κατάσταση (Mehrpour, 2025).

3.8 Μέθοδοι Προσδιορισμού Βαρέων Μετάλλων σε Βιολογικά Δείγματα

Η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των τοξικών μετάλλων σε βιολογικά υγρά όπως το αίμα και τα ούρα αποτελεί βασικό εργαλείο για την αξιολόγηση της έκθεσης του ανθρώπινου οργανισμού σε βαρέα μέταλλα και τη διάγνωση σχετιζόμενων τοξικολογικών καταστάσεων. Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στους ιστούς και τα υγρά του σώματος αντανακλούν τόσο την οξεία όσο και τη χρόνια έκθεση καθιστώντας την αναλυτική ανίχνευσή τους απαραίτητη στα πεδία της Κλινικής και Δικαστικής Τοξικολογίας. Παρόλο που η μέθοδος της φασματοσκοπίας ακτίνων X (XRF) αποτελεί τη βασική τεχνική που εφαρμόστηκε στο πειραματικό μέρος της παρούσας μελέτης, είναι χρήσιμο να παρουσιαστούν συνοπτικά και άλλες σύγχρονες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται διεθνώς για την ανάλυση βαρέων μετάλλων σε βιολογικά δείγματα. Οι πιο διαδεδομένες τεχνικές που χρησιμοποιούνται εκτός της XRF είναι οι παρακάτω:

- Φασματοσκοπία Ατομικής Απορρόφησης (Atomic Absorption Spectroscopy (AAS))
- Φασματομετρία Μαζών Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS)
- Φασματοσκοπία Ατομικής Εκπομπής Επαγωγικά Συζευγμένου πλάσματος (ICP-OES)

Οι τέσσερις αυτές αναλυτικές μέθοδοι παρουσιάζονται στα επόμενα κεφάλαια όπου τεκμηριώνεται η σημασία τους στην ανάλυση μέσω πολλαπλών βιβλιογραφικών αναφορών.

4. Φασματοσκοπία Ατομικής Απορρόφησης (Atomic Absorption Spectroscopy (AAS))

4.1 Αρχές ατομικής απορρόφησης

Η τεχνική της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης βασίζεται στην απορρόφηση ακτινοβολίας συγκεκριμένου μήκους κύματος από ελεύθερα άτομα, ώστε να προσδιοριστεί ποσοτικά η συγκέντρωση ενός στοιχείου. Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αποτελεί μια μορφή ενέργειας που παρουσιάζει ταυτόχρονα ιδιότητες κύματος και σωματιδίου. Μπορεί να περιγραφεί μέσω του μήκους κύματος (λ), δηλαδή τις αποστάσεις ανάμεσα σε δύο διαδοχικές κορυφές και της συχνότητας (ν), που δείχνει πόσα κύματα περνούν από ένα σημείο σε συγκεκριμένο χρόνο (Skoog et al., 2021). Οι δύο ποσότητες συνδέονται με την εξίσωση :

$$\nu = \frac{c}{\lambda}$$

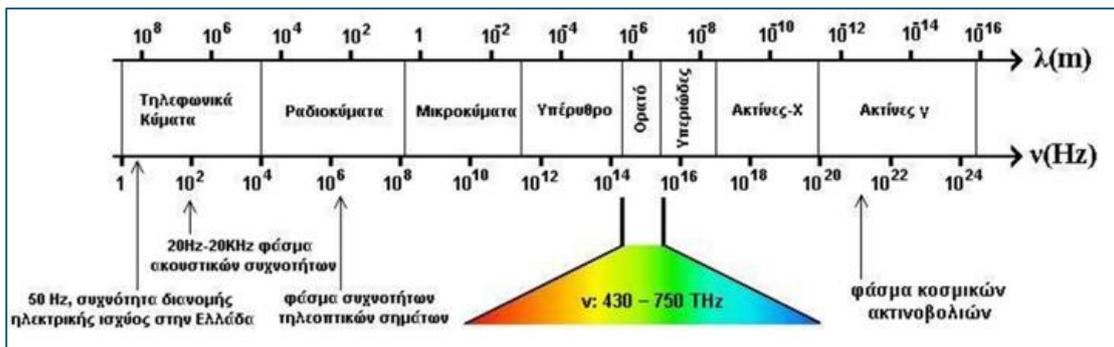
όπου c η ταχύτητα του φωτός στο κενό ($c=3*10^8$ m/s).

Η κατανόηση της απορρόφησης βασίζεται στην αντίληψη ότι η ακτινοβολία έχει σωματιδιακή φύση. Αποτελείται από φωτόνια, η ενέργεια των οποίων είναι κβαντισμένη και εκφράζεται από τον τύπο του Planck :

$$E = h\nu$$

όπου E είναι η διαφορά ενέργειας μεταξύ δύο ηλεκτρονιακών στοιβάδων, ενώ h είναι η σταθερά του Planck ($h=6,6254*10^{-34}$ J*s).

Τα ατομικά φάσματα εμφανίζονται συνήθως σε περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος που περιλαμβάνουν την υπεριώδη, την ορατή και την υπέρυθη ακτινοβολία (Skoog et al., 2021)..



Εικόνα 4 : Απεικόνιση ηλεκτρομαγνητικού φάσματος

Η απορρόφηση εκδηλώνεται όταν τα άτομα δεχτούν φωτόνια με ενέργεια ίση με την ενεργειακή διαφορά δύο ηλεκτρονιακών επιπέδων, ώστε τα ηλεκτρόνια να διεγείρονται σε ανώτερο επίπεδο. Οι μεταβάσεις αυτές είναι χαρακτηριστικές για κάθε στοιχείο και πραγματοποιούνται σε συγκεκριμένα μήκη κύματος. Η ποσότητα ακτινοβολίας που απορροφάται είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση του στοιχείου στο δείγμα. Η σχέση αυτή περιγράφεται από τον νόμο Lambert-Beer :

$$A = \log \frac{P_0}{P} = \varepsilon * l * c$$

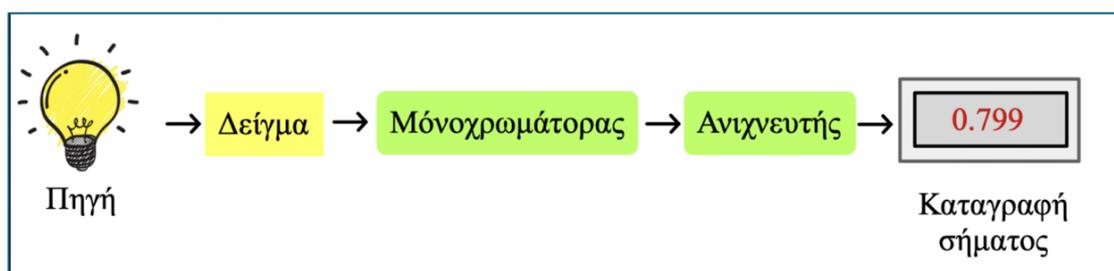
όπου A είναι η απορρόφηση, P₀ η αρχική ένταση της ακτινοβολίας, P η ένταση μετά τη διέλευση από το δείγμα, ε ο συντελεστής απορρόφησης, l το μήκος διαδρομής του φωτός και c η συγκέντρωση του στοιχείου που μετράμε (Skoog et al., 2021).

4.2 Κύρια όργανα της Φασματοσκοπίας Ατομικής Απορρόφησης

Η οργανολογία της ατομικής απορρόφησης αποτελείται από διάφορα μέρη που συνεργάζονται για να πραγματοποιηθεί η μέτρηση. Αρχικά, απαιτείται μια πηγή ακτινοβολίας, η οποία είναι συνήθως μια λυχνία κοίλης καθόδου ή λυχνία εκκένωσης του υπό ανίχνευσης στοιχείου, ώστε να εκπέμπει στο χαρακτηριστικό μήκος κύματος του. Στη συνέχεια, το δείγμα πρέπει να μετατραπεί σε ελεύθερα άτομα μέσα σε σύστημα ατομοποίησης, το οποίο μπορεί να είναι είτε φλόγα είτε φούρνος γραφίτη.

Ακολουθεί ο μονοχρωμάτορας, ο οποίος απομονώνει το συγκεκριμένο μήκος κύματος που αντιστοιχεί στο στοιχείο, εξαλείφοντας πιθανές παρεμβολές από άλλα. Η ακτινοβολία που απομένει καταγράφεται από τον ανιχνευτή, ο οποίος μετατρέπει την ένταση του φωτός σε ηλεκτρικό σήμα, συνήθως με τη χρήση φωτοπολλαπλασιαστή.

Τέλος, το σήμα οδηγείται σε συστήματα καταγραφής ή σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, όπου γίνεται η επεξεργασία και η εμφάνιση των αποτελεσμάτων, ώστε να υπολογιστεί η απορρόφηση και κατόπιν η συγκέντρωση του στοιχείου στο δείγμα. Με αυτόν τον τρόπο το σύστημα της ατομικής απορρόφησης στηρίζεται στη συνεργασία της πηγής ακτινοβολίας, του συστήματος ατομοποίησης, του μονοχρωμάτορα, του ανιχνευτή και του καταγραφικού συστήματος (Skoog et al., 2021).



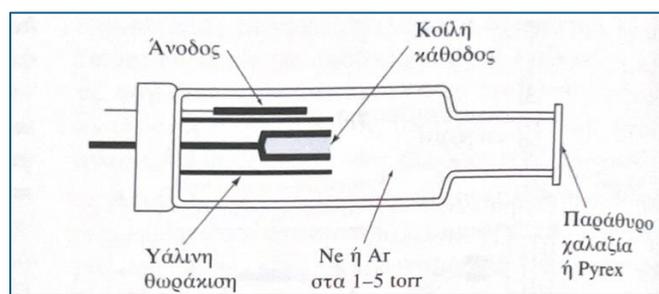
Εικόνα 5: Διάταξη συστήματος φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης

4.3 Πηγές ακτινοβολίας

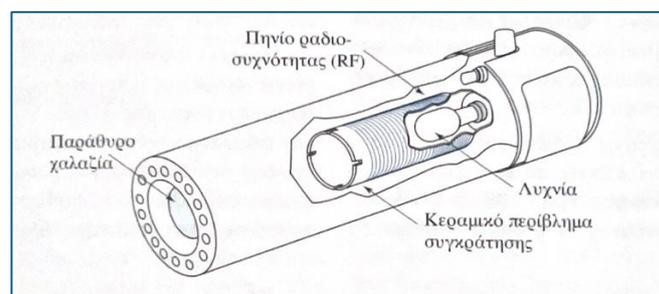
Στην AAS χρησιμοποιούνται λυχνίες που εκπέμπουν γραμμικό φως, δηλαδή ακτινοβολία με πολύ στενές και συγκεκριμένες γραμμές εκπομπής. Ο λόγος είναι ότι κάθε στοιχείο απορροφά ακτινοβολία μόνο σε χαρακτηριστικά μήκη κύματος τα οποία αντιστοιχούν στις ενεργειακές τους μεταβάσεις. Έτσι η χρήση γραμμικών λυχνιών εξασφαλίζει εκλεκτικότητα, καθώς το φως που εκπέμπεται αντιστοιχεί ακριβώς στα μήκη κύματος που μπορούν να απορροφηθούν από το κάθε στοιχείο που αναλύεται. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες λυχνίες που χρησιμοποιούνται είναι οι λυχνίες κοίλης καθόδου (hollow-cathode lamp (HCL)) και οι λυχνίες εκκένωσης χωρίς ηλεκτρόδια (Electrodeless Discharge Lamps (EDL)).

- **Λυχνίες κοίλης καθόδου (hollow-cathode lamp (HCL))** : Αυτές είναι οι πιο συνηθισμένες πηγές φωτός σου στην AAS. Αποτελούνται από την κάθοδο φτιαγμένη από το μέταλλο που μελετάτε, την άνοδο (συνήθως από βολφράμιο) και ένα ευγενές αέριο. Με την εφαρμογή τάσης, τα ιόντα του αερίου βομβαρδίζουν την κάθοδο, απελευθερώνοντας άτομα του στοιχείου. Τα άτομα διεγείρονται και κατά την επιστροφή τους στη θεμελιώδη κατάσταση εκπέμπουν χαρακτηριστική ακτινοβολία γραμμικού φάσματος, που αντιστοιχεί αποκλειστικά στο στοιχείο της καθόδου (Skoog et al., 2021).

- **Λυχνίες εκκένωσης χωρίς ηλεκτρόδια (Electrodeless Discharge Lamps (EDL))** : Χρησιμοποιούνται σε περιπτώσεις όπου οι λυχνίες κοίλης καθόδου δίνουν χαμηλή ένταση ή δεν είναι πρακτικές. Οι συγκεκριμένες περιέχουν μικρή ποσότητα του στοιχείου προς ανάλυση (συνήθως σε μορφή αλογονιδίου) και αδρανές αέριο όπως το αργό. Η διέγερση πραγματοποιείται με την χρήση μικροκυμάτων ή ραδιοσυχνοτήτων χωρίς ηλεκτρόδια. Παράγουν έντονη εκπομπή γραμμικού φάσματος, προσφέροντας καλύτερα όρια ανίχνευσης αν και είναι πιο ακριβές και πιο δύσχρηστες (Skoog et al., 2021).



Εικόνα 6: Απεικόνιση τομής μιας λυχνίας κοίλης καθόδου (Skoog et al., 2021).



Εικόνα 7: Απεικόνιση λυχνίας εκκένωσης χωρίς ηλεκτρόδια (Skoog et al., 2021).

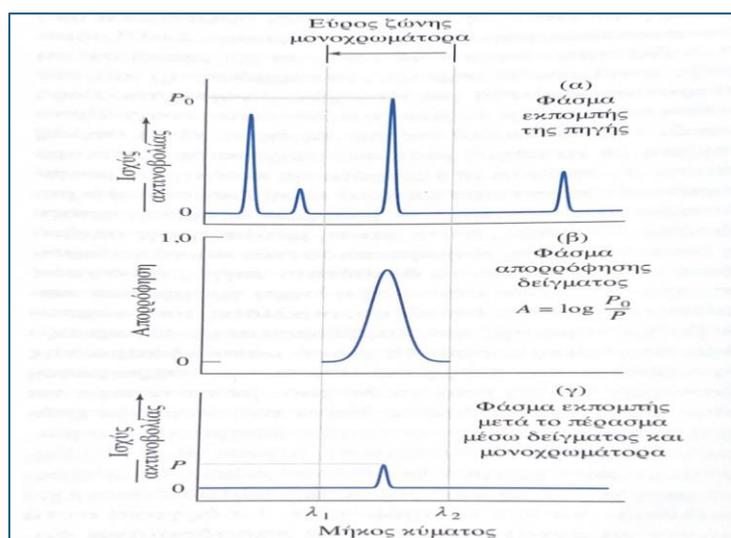
4.4 Μονοχρωμάτορας

Ο μονοχρωμάτορας είναι το τμήμα του οργάνου που έχει ως κύρια αποστολή να απομονώνει το μήκος κύματος της ακτινοβολίας που αντιστοιχεί στο προς μέτρηση στοιχείο ώστε να μην επηρεάζεται η μέτρηση από παρεμβολές άλλων ακτινοβολιών. Η λειτουργία του βασίζεται στη διάθλαση ή/και ανάκλαση της ακτινοβολίας. Συνήθως χρησιμοποιούνται είτε φράγματα περίθλασης, που κατευθύνουν τα διάφορα μήκη κύματος σε διαφορετικές γωνίες είτε πρίσματα τα οποία διαχωρίζουν τα μήκη κύματος μέσω του φαινομένου της διάθλασης. Ο μονοχρωμάτορας ρυθμίζεται ώστε να αφήνει να περάσει μόνο μια στενή ζώνη ακτινοβολίας γύρω από το επιθυμητό μήκος κύματος.

Η περιοχή μήκους κύματος, που διέρχεται από τον μονοχρωμάτορα ονομάζεται φασματικό εύρος διέλευσης ζώνης ή δραστικό εύρος ζώνης. Αυτό είναι απαραίτητο προκειμένου να εξασφαλιστεί η εκλεκτικότητα, η ευαισθησία και η γραμμικότητα των αποτελεσμάτων της συγκεκριμένης μεθόδου (Skoog et al., 2021). Οι μονοχρωμάτορες διακρίνονται σε 2 κατηγορίες :

- **Μονοχρωμάτορες σταθερού μήκους κύματος :** Σε αυτούς, ο μονοχρωμάτορας ρυθμίζεται μια φορά σε συγκεκριμένο μήκος κύματος και μένει σταθερός σε όλη τη διάρκεια της ανάλυσης. Είναι απλούστερος στη χρήση και επαρκεί όταν απαιτείται μέτρηση ενός μόνου στοιχείου σε κάθε στιγμή (Skoog et al., 2021).
- **Μονοχρωμάτορες σάρωσης :** Αυτοί μπορούν να σαρώνουν δηλαδή να μεταβάλλουν συνεχώς το μήκος κύματος που αφήνουν να περάσει. Έτσι, είναι δυνατή η παρατήρηση ολόκληρου του φάσματος ενός στοιχείου και η επιλογή της γραμμής με την καλύτερη ευαισθησία ή τη λιγότερη παρεμβολή. Χρησιμοποιούνται σε πιο εξελιγμένα όργανα και διευκολύνουν τη μέτρηση πολλών στοιχείων, αφού με μια πηγή συνεχούς εκπομπής μπορούν να επιλεγούν διαδοχικά διαφορετικά μήκη κύματος (Skoog et al., 2021).

Στην παρακάτω εικόνα απεικονίζεται το φάσμα ατομικής απορρόφησης μετά από το πέρασμα της ακτινοβολίας από τον μονοχρωμάτορα. Στην εικόνα (α) παρατηρείται το ολικό φάσμα που εκπέμπει η πηγή ακτινοβολίας. Στην εικόνα (β) παρουσιάζεται το μήκος κύματος που φτάνει στο δείγμα αφού έχει διέλθει από τον μονοχρωμάτορα για την επιλογή του. Τέλος, στην εικόνα (γ) εμφανίζεται το φάσμα αφού έχει διέλθει από το δείγμα με την ένταση εμφανώς μειωμένη καθώς μέρος αυτής έχει απορροφηθεί από το υπό μελέτη στοιχείο.



Εικόνα 8 : Απορρόφηση μιας γραμμής συντονισμού από τα άτομα (Skoog et al., 2021).

4.5 Σύστημα Ατομοποίησης

Η ατομοποίηση αποτελεί κρίσιμο στάδιο της ανάλυσης, κατά το οποίο η εφαρμογή ενέργειας στο δείγμα οδηγεί στη δημιουργία νέφους ελεύθερων ατόμων. Τα άτομα αυτά έχουν την δυνατότητα να απορροφούν ακτινοβολία στο δικό τους χαρακτηριστικό μήκος κύματος, επιτρέποντας την ποσοτική και ποιοτική ανάλυση. Για την υλοποίηση της διαδικασίας χρησιμοποιούνται κυρίως δύο συστήματα : η φλόγα και ο φούρνος γραφίτη.

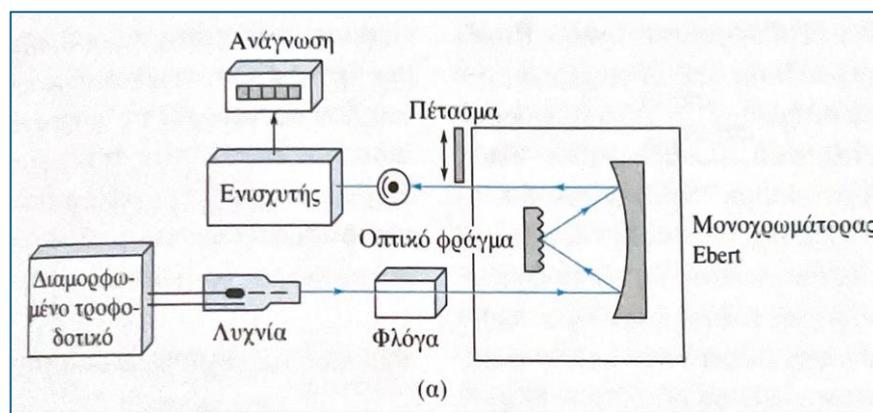
- **Ατομοποίηση με φλόγα :** Το δείγμα, σε υγρή μορφή, μετατρέπεται σε αερόλυμα με τη βοήθεια ενός νεφελοποιητή και εισάγεται στην φλόγα (συνήθως αέρα-ακετυλένιο → θερμοκρασία ~ 2300 °C ή N₂O-ακετυλένιο → θερμοκρασία ~ 2900 °C). Μέσα στην φλόγα πραγματοποιούνται διαδοχικά τα στάδια: εξάτμιση του διαλύτη, αποδόμηση των μορίων, δημιουργία ελεύθερων ατόμων ικανά να απορροφήσουν την χαρακτηριστική ακτινοβολία (Skoog et al., 2021).
- **Ηλεκτροθερμική ατομοποίηση με φούρνο γραφίτη (GF):** ο φούρνος γραφίτη γνωστός και ως ηλεκτροθερμικός ατομοποιητής χρησιμοποιείται όταν απαιτείται υψηλή ευαισθησία. Το δείγμα τοποθετείται σε μικρό σωληνάριο γραφίτη που θερμαίνεται ηλεκτρικά σε ελεγχόμενα στάδια : ξήρανση για απομάκρυνση του διαλύτη, πυρόλυση για καταστροφή οργανικών υπολειμμάτων και τελικά ατομοποίηση σε πολύ υψηλή θερμοκρασία. Η συγκεκριμένη μέθοδος

επιτρέπει την ανάλυση πολύ μικρών ποσοτήτων δείγματος και προσφέρει πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης του επιπέδου ppb (Skoog et al., 2021).

4.6 Ανιχνευτές

Ο ανιχνευτής είναι το όργανο που μετρά την ένταση της ακτινοβολίας αφού περάσει μέσα από το νέφος ατόμων. Ουσιαστικά, μετατρέπει την ακτινοβολία σε ηλεκτρικό σήμα που μπορεί να καταγραφεί και να αναλυθεί. Για την AAS απαιτείται υψηλή ευαισθησία, μεγάλη γραμμικότητα και μικρός θόρυβος, καθώς οι διαφορές της έντασης του φωτός μπορεί να είναι πολύ μικρές. Οι πιο διαδεδομένοι ανιχνευτές στην AAS είναι οι φωτοπολλαπλασιαστές, η λειτουργία των οποίων βασίζεται στο φωτοηλεκτρικό φαινόμενο. Όταν ακτινοβολία κατάλληλης ενέργειας προσπίπτει στο μέταλλο της καθόδου, απελευθερώνονται ηλεκτρόνια από αυτή. Αυτά τα αρχικά ηλεκτρόνια επιταχύνονται από ηλεκτρικό πεδίο και κατευθύνονται σε μια σειρά ηλεκτροδίων (δύνοδοι). Σε κάθε πρόσκρουση απελευθερώνονται περισσότερα ηλεκτρόνια με συνέπεια ο αριθμός τους να αυξάνεται εκθετικά. Έτσι, η αρχική δέσμη φωτός, ακόμη και αν είναι πολύ ασθενής μετατρέπεται τελικά σε ισχυρό ηλεκτρικό σήμα, το οποίο μπορεί να καταγραφεί με υψηλή ακρίβεια (Skoog et al., 2021).

Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται ένα ολοκληρωμένο σύστημα φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης φλόγας.



Εικόνα 9 : Φασματοόμετρο ατομικής απορρόφησης φλόγας απλής δέσμης (Skoog et al., 2021).

Για πολλά στοιχεία τα όρια ανίχνευσης της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης με ατομοποίηση φλόγας βρίσκονται στην περιοχή 1-20 ng/mL, ή 0,001-0,020 ppm. Για την τεχνική της ηλεκτροθερμικής ατομοποίησης με φούρνο γραφίτη τα αντίστοιχα μεγέθη είναι 0,002-0,01 ng/mL, ή $2 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ ppm. Στον παρακάτω πίνακα εμφανίζονται τα όρια ανίχνευσης για τα πιο σημαντικά βαρέα μέταλλα (Skoog et al., 2021).

Στοιχείο	AAS Φλόγας	AAS Ηλεκτροθερμική
Cd	1	0,01
Cr	4	0,03
Hg	500	5
Ni	3	0,5
Pb	8	0,1

Πίνακας 3: Όρια ανίχνευσης μετάλλων σε (ng/mL) (Skoog et al., 2021)

4.7 Ενδεικτικές εφαρμογές της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης

Αφού παρουσιάστηκαν οι αρχές και τα βασικά μέρη της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης, ακολουθεί η ανασκόπηση της χρήσης της. Η AAS εφαρμόζεται εκτενώς για τον προσδιορισμό βαρέων μετάλλων, ιδιαίτερα σε βιολογικά υγρά, χάρη στην ευαισθησία και την εκλεκτικότητα της. Στη συνέχεια παρατίθενται ενδεικτικές μελέτες που αναδεικνύουν τη συμβολή της τεχνικής στη βιοαναλυτική έρευνα.

- I. Από τους [Tudosie M. S. et al., 2021] εξετάστηκε η μέθοδος της φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης με φούρνο γραφίτη για τον προσδιορισμό των επιπέδων μόλυβδου σε αίμα και ούρα, με σκοπό την ενίσχυση της διαγνωστικής προσέγγισης σε περιστατικά οξείας κοιλιακής άλγης. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το φασματόμετρο Varian SpectrAA-880, εξοπλισμένο με κάθοδο κοίλης λυχνίας μόλυβδου σε συνδυασμό με αυτόματο φούρνο γραφίτη GTA-100. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η μέθοδος εμφανίζει υψηλή ευαισθησία και ακρίβεια, με γραμμικότητα στο εύρος 10-100 $\mu\text{g/L}$ ($R=0,999$) και χαμηλά όρια ανίχνευσης ($\text{LOD} \sim 4,15 \mu\text{g/L}$). Η εφαρμογή της σε δείγματα ασθενών με οξεία δηλητηρίαση από μόλυβδο έδειξε τη

χρησιμότητά της τόσο στη διάγνωση όσο και στην παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας με χηλικούς παράγοντες. Συνεπώς, η τεχνική αυτή αποτελεί αξιόπιστο εργαλείο για την έγκαιρη αναγνώριση και ορθή κλινική διαχείριση της δηλητηρίασης από αυτό, συμβάλλοντας παράλληλα στην αποφυγή περιττών χειρουργικών παρεμβάσεων.

- II. Οι [Adokwe, J. B et al., 2025] διερεύνησαν τη συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης σε μόλυβδο και κάδμιο και του κινδύνου ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2. Στη συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκε η φασματομετρία ατομικής απορρόφησης με φούρνο γραφίτη για την ποσοτική εκτίμηση των επιπέδων τους στο πλήρες αίμα. Η τεχνική αυτή επέτρεψε την ακριβή μέτρηση ακόμα και χαμηλών συγκεντρώσεων, με όρια ανίχνευσης περίπου 3 $\mu\text{g/dL}$ για τον μόλυβδο και 0,1 $\mu\text{g/L}$ για το κάδμιο. Για την διασφάλιση της αξιοπιστίας εφαρμόστηκαν πολυστοιχειακά πρότυπα βαθμονόμησης και χρησιμοποιήθηκαν υλικά αναφοράς πιστοποιημένης ποιότητας. Μέσα από την εφαρμογή της GF-AAS, διαπιστώθηκε ότι τα άτομα με διαβήτη εμφάνισαν υψηλότερα επίπεδα μόλυβδου σε σύγκριση με τους υγιείς, ενώ για το κάδμιο δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση.
- III. Οι [Panghal, A. et al., 2020] σε πειραματικό μοντέλο, μελέτησαν την πρόκληση οξειδωτικού στρες από αρσενικό σε καλλιέργεια ερυθρών αιμοσφαιρίων αρουραίων και την προστατευτική δράση χηλικών/αντιοξειδωτικών παραγόντων. Για τον προσδιορισμό των επιπέδων του αρσενικού στο αίμα, χρησιμοποιήθηκε η ατομική απορρόφηση με σύστημα παραγωγής υδριδίων, με μετρήσεις σε διαφορετικούς χρόνους, μετά από εφάπαξ δόση αρσενικού 200 ppm. Η τεχνική επέτρεψε υψηλή ευαισθησία, καταγράφοντας μέγιστη συγκέντρωση ~ 25 ppm As στο ολικό αίμα περίπου 8 ώρες μετά τη χορήγηση. Επιπλέον χορηγήθηκε στους αρουραίους ο χηλικός παράγοντας MiADMSA μόνο του ή σε συνδυασμό με γαλλικό οξύ, με αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση της συσσώρευσης As στα ερυθρά και των δεικτών οξειδωτικού στρες συγκριτικά με τα δείγματα που δεν είχαν λάβει θεραπεία.
- IV. Ο [Miller-Ihli N.J., 1989] πραγματοποίησε μετρήσεις σε δείγματα ούρων τόσο με άμεση ανάλυση όσο και μετά από αραίωση 1:10 v/v με απεσταγμένο νερό, προκειμένου να ποσοτικοποιήσουν το χρώμιο μέσω της τεχνικής GF-AAS. Στην έρευνα περιλήφθηκαν επίσης πιστοποιημένα υλικά αναφοράς, με τις μέσες συγκεντρώσεις Cr που προέκυψαν να συμφωνούν με τις αντίστοιχες τιμές

αναφοράς. Το αποτέλεσμα αυτό κατέδειξε ότι οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν παρείχαν αξιόπιστα δεδομένα.

- V. Οι [Abdullahi, I. L., & Sani, A., 2020] εξέθεσαν 12 ομάδες αρουραίων σε αναθυμιάσεις ηλεκτροσυγκόλλησης επί 12 εβδομάδες για να μελετήσουν τη συσσώρευση βαρέων μετάλλων και τις τοξικές επιδράσεις τους. Μετά το πείραμα, πραγματοποιήθηκε ευθανασία των ζώων και τα δείγματα ολικού αίματος αναλύθηκαν με φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης ως προς τα μέταλλα Pb, Cd, Cr, Ni, Fe κλπ. Παρατηρήθηκε σημαντική άνοδος στις συγκεντρώσεις των Pb, Cr, Fe, Mn και Ni στο αίμα των εκτεθειμένων αρουραίων σε σχέση με τους αρουραίους «μάρτυρες». Αντιθέτως για άλλα μέταλλα όπως το αλουμίνιο και ο ψευδάργυρος δεν σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές. Η παρουσία υψηλότερων επιπέδων βαρέων μετάλλων συνοδεύτηκε από τοξικολογικά συμπτώματα στα εκτεθειμένα ζώα, γεγονός που υπογραμμίζει την ανάγκη ελέγχου και περιορισμού της επαγγελματικής έκθεσης σε καπνούς συγκόλλησης.
- VI. Οι [Vesterberg, O., & Wrangskogh, K., 1978] αξιοποίησαν ε φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης με φούρνο γραφίτη για τον ακριβή ποσοτικό προσδιορισμό του καδμίου σε δείγματα ούρων. Τα δείγματα ούρων αραιώθηκαν σε όξινο μέσο (0,3 M HNO₃), πολύ μικροί όγκοι (1-5 μL) επαρκούσαν για την ανάλυση, γεγονός που κατέστησε τη μέθοδο ιδιαίτερα ευαίσθητη. Το όριο ανίχνευσης (LOD) που επιτεύχθηκε ήταν εξαιρετικά χαμηλό, περίπου 1,2 pmol/L, τιμή που για την εποχή θεωρήθηκε σημαντική πρόοδος στην ανάλυση ιχνοστοιχείων σε βιολογικά υγρά. Η αναλυτική ακρίβεια της μεθόδου κρίθηκε ικανοποιητική, με συντελεστή μεταβλητότητας (CV) περίπου 8% στην περιοχή συγκεντρώσεων 20-100 pmol/L Cd. Τέλος, τα αποτελέσματα έδειξαν άριστη συσχέτιση με ανεξάρτητη μέθοδο συμπλοκοποίησης/εκχύλισης ($r=0,994$) επιβεβαιώνοντας την αξιοπιστία και την εγκυρότητα της GF-AAS για τον προσδιορισμό Cd σε ούρα.
- VII. Οι [Horng, C.-J., & Lin, S.-R., 1998] εφάρμοσαν διαφορετικές τεχνικές φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης για τον προσδιορισμό ιχνοστοιχείων (As, Hg, Zn, Pb, Se) σε ούρα ασθενών με την νόσο “Blackfoot”. Για τον προσδιορισμό των Pb και Se χρησιμοποιήθηκε GF-AAS, για το As χρησιμοποιήθηκε HG-AAS, για τον Hg χρησιμοποιήθηκε CV-AAS και για τον Zn χρησιμοποιήθηκε FAAS. Η εγκυρότητα των μετρήσεων επιβεβαιώθηκε

μέσω της χρήσης πιστοποιημένων υλικών αναφοράς. Στα δείγματα ούρων υγείων ατόμων οι συγκεντρώσεις μόλυβδου κυμάνθηκαν από 5,18 έως 53,81 $\mu\text{g/L}$, ενώ στους ασθενείς με τη νόσο παρατηρήθηκαν τιμές από 6,54 έως 116,2 $\mu\text{g/L}$. Για το σελήνιο, οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις ήταν 13,0 έως 58,9 $\mu\text{g/L}$. Στους υγιείς και 2,2 έως 57,1 $\mu\text{g/L}$ στους ασθενείς. Η μελέτη κατέδειξε ότι η AAS αποτελεί αξιόπιστο, γρήγορο και οικονομικό εργαλείο για την ανάλυση πολλών ιχνοστοιχείων σε βιολογικά δείγματα.

- VIII. Ο [Dang, T., 1999] εφάρμοσε την HG-AAS για βιολογική παρακολούθηση της έκθεσης εργαζομένων σε αρσενικό. Αναλύθηκαν δείγματα ούρων 75 μη εκτεθειμένων ατόμων με διήμερη αποχή από θαλασσινά και 147 εργατών μεταλλουργίας. Η μέση συγκέντρωση As στα ούρα του πληθυσμού «μαρτύρων» βρέθηκε $62,4 \pm 11,6 \mu\text{g/L}$, ενώ στους εκτεθειμένους εργάτες ήταν σημαντικά αυξημένη $78,5 \pm 20,2 \mu\text{g/L}$.

5. Φασματομετρία Μάζων Επαγωγικά Συζευγμένου

Πλάσματος(ICP-MS)

5.1 Αρχή της μεθόδου

Η φασματομετρία μάζας με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (Inductively coupled plasma mass spectrometry ή ICP-MS), εμφανίστηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1980 και διαμορφώθηκε σε μια από τις πιο σύγχρονες και ευαίσθητες τεχνικές στοιχειακής ανάλυσης, λόγω των επιτυγχανόμενων χαμηλών ορίων ανίχνευσης για τα περισσότερα στοιχεία. Σε αντίθεση με την τεχνική της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης όπου ο διαχωρισμός πραγματοποιείται με βάση το ατομικό φάσμα, στην ICP-MS ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με βάση το πεδίο μάζας, προσφέροντας χαμηλότερα όρια ανίχνευσης και ισοτοπική πληροφορία (Skoog et al., 2021).

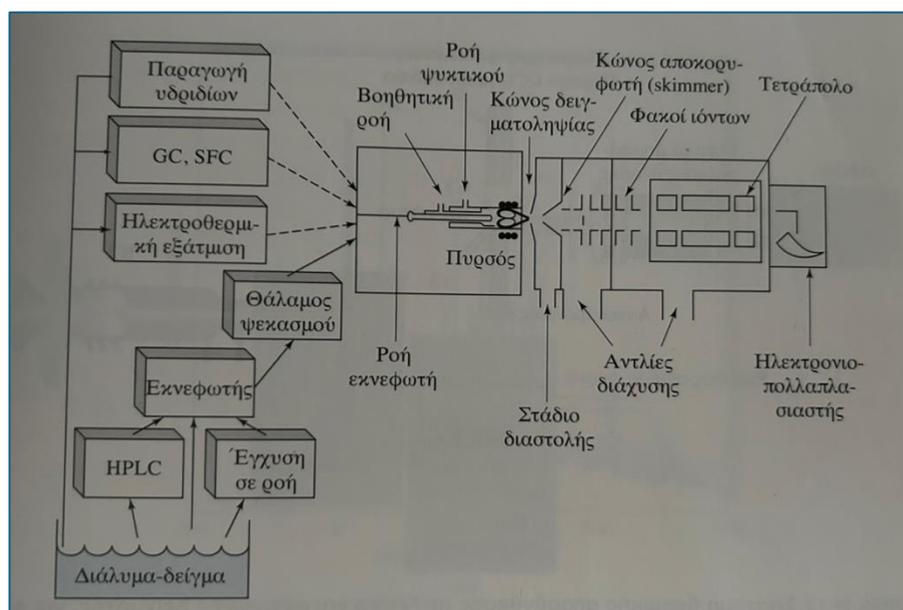
Στη συγκεκριμένη μέθοδο πραγματοποιείται αρχικά ατομοποίηση και ιονισμός μέσω του πλάσματος (ICP) και στη συνέχεια ανάλυση των παραγόμενων ιόντων με φασματομετρία μάζας. Ειδικότερα, το δείγμα σε υγρή μορφή (συνήθως) μετατρέπεται σε αερόλυμα με την βοήθεια ενός νεφελοποιητή και οδηγείται στο πλάσμα αργού. Το πλάσμα, το οποίο διατηρείται σε θερμοκρασία περίπου 6000-10000K, διασπά τις χημικές ενώσεις, ατομοποιεί τα στοιχεία και τα ιονίζει, δημιουργώντας ένα νέφος θετικά φορτισμένων ιόντων. Ύστερα, τα ιόντα περνούν μέσα από ειδικούς κώνους που τα μεταφέρουν από το πλάσμα σε θάλαμο υψηλού κενού, όπου εστιάζονται και κατευθύνονται στον αναλυτή μάζας. Εκεί, διαχωρίζονται ανάλογα με το λόγο μάζας προς φορτίο (m/z) και τελικά ανιχνεύονται από τον ανιχνευτή. Η συγκέντρωση του υπό μελέτη στοιχείου είναι ανάλογη της έντασης σήματος που καταγράφεται. Έτσι, είναι δυνατή η ταυτόχρονη ανάλυση πολλών στοιχείων με εξαιρετικά χαμηλά όρια σε επίπεδο ppb (Skoog et al., 2021).

5.2 Οργανολογία

Ένα όργανο ICP-MS αποτελείται από διαδοχικά τμήματα που συνεργάζονται προκειμένου να μεταφέρουν το δείγμα από συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης, όπου λειτουργεί το ICP, σε συνθήκες κενού, που λειτουργεί το φασματόμετρο μάζας. Συγκεκριμένα, το παραγόμενο αερόλυμα αρχικά εισέρχεται στον κώνο δειγματοληψίας, ένα μικρό μεταλλικό κώνο με στόμιο διαμέτρου μικρότερης του 1 mm. Μέσω αυτού, μέρος του πλάσματος μεταφέρεται σε μια περιοχή που διατηρείται

υπό μειωμένη πίεση με την βοήθεια της αντλίας. Στη συνέχεια, ένα κλάσμα του αερίου περνά από έναν δευτερο κώνο, τον αποκορυφωτή, που αφαιρεί πλεονάζον υλικό και επιτρέπει τη διέλευση των ιόντων σε στάδιο κενού. Εκεί τα θετικά ιόντα διαχωρίζονται μέσω μιας αρνητικής τάσης από τα μοριακά σωματίδια και τα ηλεκτρόνια. Κατόπιν, επιταχύνονται και εστιάζονται με μαγνητικό φακό ιόντων στο στόμιο εισόδου ενός αναλυτή μαζών. Εκεί, διαχωρίζονται ανάλογα με το λόγο μάζας προς φορτίο και στη συνέχεια ανιχνεύονται από τον κατάλληλο ανιχνευτή, όπως ο πολλαπλασιαστής ηλεκτρονίων, που μετατρέπει το ιοντικό σήμα σε ηλεκτρικό ρεύμα (Skoog et al., 2021).

Σύμφωνα με τις τυπικές προδιαγραφές, ένα εμπορικό ICP-MS μπορεί να καλύψει περιοχή μαζών περίπου από 3 έως 300 amu, με ικανότητα διαχωρισμού ιόντων που διαφέρουν κατά μία μονάδα λόγου m/z και δυναμική περιοχή σημάτων 6 τάξεων μεγέθους. Χάρη σε αυτά, είναι δυνατός προσδιορισμός της πλειονότητας των στοιχείων του περιοδικού πίνακα, με όρια ανίχνευσης που φτάνουν σε επίπεδα 0,1-10 ppb. Οι χρόνοι μέτρησης είναι σύντομοι, περίπου 10 δευτερόλεπτα ανά στοιχείο, ενώ οι τυπικές σχετικές αποκλίσεις κυμαίνονται από 2% έως 4%. Τα τελευταία χρόνια έχει προστεθεί και η τεχνική θερμικής εξάχνωσης (Ablation ICP-MS), που επιτρέπει την άμεση ανάλυση στερεών δειγμάτων χωρίς να απαιτείται χημική πέψη, διευρύνοντας ακόμη περισσότερο το φάσμα εφαρμογών της μεθόδου (Skoog et al., 2021).



Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση ενός συστήματος ICP-MS. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιστοιχούν σε εισαγωγή αέριων δειγμάτων ενώ οι συνεχείς εισαγωγή υγρών δειγμάτων (Skoog et al., 2021).

5.3 Φασματοσκοπικές παρεμποδίσεις

Η ανάλυση με ICP-MS μπορεί να επηρεαστεί από παρεμβολές που προέρχονται από ιόντα με παρόμοιο λόγο m/z με τον αναλυτή. Οι βασικότερες είναι :

- **Ισοβαρικές παρεμποδίσεις:** Προκαλούνται όταν δύο διαφορετικά ισότοπα από διαφορετικά στοιχεία έχουν ουσιαστικά την ίδια μάζα. Συνήθως εμφανίζονται στα ισότοπα με τη μεγαλύτερη φυσική αφθονία, γεγονός που δυσκολεύει ακόμα περισσότερο τον διαχωρισμό. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα $^{115}\text{Sn}^+$ και $^{115}\text{In}^+$, που δεν μπορούν να διαχωριστούν με τετραπολικά όργανα. Επίσης, το $^{40}\text{Ar}^+$ επικαλύπτει το $^{40}\text{Ca}^+$. Προκειμένου να αντιμετωπιστεί το συγκεκριμένο πρόβλημα χρησιμοποιούνται ισότοπα χαμηλότερης αφθονίας, μαθηματικές διορθώσεις ή χρήση οργάνων με αυτόματη διόρθωση (Skoog et al., 2021).
- **Παρεμποδίσεις πολυατομικών ιόντων:** Σχηματίζονται όταν άτομα του πλάσματος (Ar), του οξέος ή της μήτρας του δείγματος ενώνονται και σχηματίζουν πολυατομικά ιόντα με ίδιο m/z με τον αναλυτή. Συνήθως συναντάτε σε περιοχές τιμών λόγου m/z μικρότερων από 82. Χαρακτηριστικά παραδείγματα τέτοιων επικαλύψεων είναι η επικάλυψη του $^{14}\text{N}_2^+$ από το $^{28}\text{Si}^+$ και του NOH^+ από το $^{31}\text{P}^+$. Τέτοιου είδους παρεμποδίσεις μπορούν να διορθωθούν με μέτρηση τυφλού ή να επιλεγεί διαφορετικό ισότοπο αναλυτή (Skoog et al., 2021).
- **Παρεμποδίσεις από οξείδια και υδροξείδια:** Προέρχονται από τον σχηματισμό ιόντων τύπου MO^+ και MOH^+ , όπου M είναι το στοιχείο του αναλυτή ή της μήτρας. Συχνά δημιουργούνται από μέταλλα που σχηματίζουν σταθερά οξείδια στο πλάσμα, όπως τα ισότοπα τιτανίου, τα οποία οδηγούν σε παρεμποδίσεις για τις κορυφές των $^{62}\text{Ni}^+$, $^{63}\text{Cu}^+$, $^{64}\text{Zn}^+$ κλπ. Σημαντικά προβλήματα προκύπτουν και από οξείδια και υδροξείδια ισοτόπων του ασβεστίου, κατά τον προσδιορισμό των στοιχείων Ni, Cu, Fe και Co. Η κατάσταση αυτή μπορεί να αποφευχθεί με τη βελτιστοποίηση των παραμέτρων του πλάσματος (ροές αερίου, ισχύς RF), με χρήση συστημάτων διόρθωσης και σε ορισμένες περιπτώσεις όργανα υψηλής διακριτικής ισχύος (Skoog et al., 2021).

5.4 Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση

Η τεχνική προσαρμόζεται εύκολα σε ποιοτικές, ημιποσοτικές και ποσοτικές αναλύσεις, γεγονός που την καθιστά εξαιρετικά ευέλικτη. Όσον αφορά τον ποσοτικό προσδιορισμό επιτρέπει την ταχεία και αξιόπιστη αναγνώριση των στοιχείων που υπάρχουν σε ένα δείγμα, ακόμη και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Τα φάσματα που καταγράφονται είναι απλούστερα και μπορούν να ερμηνευτούν ευκολότερα σε σχέση με τα φάσματα της φασματοσκοπίας οπτικής απορρόφησης. Έτσι στοιχεία όπως ο σίδηρος ή άλλα μέταλλα, που δίνουν περίπλοκα φάσματα εκπομπής, ανιχνεύονται με μεγαλύτερη ευκολία μέσω της φασματομετρίας μάζας. (Skoog et al., 2021).

Με την ICP-MS είναι δυνατός ο ημιποσοτικός προσδιορισμός ενός μεγάλου αριθμού στοιχείων χωρίς την ανάγκη κατασκευής ειδικών καμπυλών βαθμονόμησης για το κάθε στοιχείο. Η μέθοδος βασίζεται στη μέτρηση της έντασης του ιοντικού σήματος και την αντιστοίχιση του με γνωστά πρότυπα. Αν και παρουσιάζει σχετικά υψηλή αβεβαιότητα, δίνει μια γρήγορη και χρήσιμη εικόνα της στοιχειακής σύστασης του δείγματος. Η πιο συνηθισμένη εφαρμογή είναι ο ποσοτικός προσδιορισμός με τη χρήση πρότυπων διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης και την κατασκευή καμπυλών βαθμονόμησης. Με αυτόν τον τρόπο, οι συγκεντρώσεις των άγνωστων δειγμάτων υπολογίζονται με βάση τη γραμμική σχέση μεταξύ έντασης σήματος και συγκέντρωσης. Για καλύτερη ακρίβεια εφαρμόζεται συχνά η χρήση εσωτερικών προτύπων (π.χ. ίνδιο, ράδιο), τα οποία διορθώνουν τυχόν μεταβολές που οφείλονται στη μήτρα ή στο όργανο. Αν χρειάζεται ακόμα μεγαλύτερη ακρίβεια, μπορεί να χρησιμοποιηθεί η τεχνική της ισοτοπικής αραίωσης (ID-ICP-MS).

Ένα από τα μεγαλύτερα πλεονεκτήματά της ICP-MS είναι τα εξαιρετικά χαμηλά όρια ανίχνευσης, τα οποία βρίσκονται συνήθως στην περιοχή 0,02-0,1 ppb για τα περισσότερα στοιχεία. Συχνά τα όρια αυτά είναι χαμηλότερα από εκείνα που μπορούν να επιτευχθούν με άλλες τεχνικές, όπως η ηλεκτροθερμική ατομική απορρόφηση. Σε συνδυασμό με την ταχύτητα και την ικανότητα πολυστοιχειακής ανάλυσης, η συγκεκριμένη μέθοδος θεωρείται κορυφαία επιλογή για την ανίχνευση μικρών ποσοτήτων μετάλλων και ιχνοστοιχείων.

5.5 Ενδεικτικές εφαρμογές της φασματομετρίας μαζών επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος

Η ICP-MS χρησιμοποιείται εκτενώς στην τοξικολογία για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση βαρέων μετάλλων, λόγω της ικανότητας της μεθόδου να προσφέρει πολυστοιχειακή ανάλυση και πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης. Προσφέρει τη δυνατότητα να ανιχνεύει απειροελάχιστες ποσότητες τοξικών μετάλλων σε βιολογικά δείγματα. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η μέθοδος έχει εφαρμοστεί σε δείγματα αίματος, ούρων, μαλλιών και ιστών για τον προσδιορισμό στοιχείων όπως ο μόλυβδος, το κάδμιο, ο υδράργυρος και το αρσενικό, τα οποία συνδέονται με σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία. Η ταυτόχρονη μέτρηση πολλών στοιχείων είναι ιδιαίτερα χρήσιμη, καθώς επιτρέπει την αξιολόγηση της συνολικής έκθεσης ενός ατόμου σε διάφορους τοξικούς παράγοντες. Ακολουθούν επιστημονικές μελέτες που αναδεικνύουν την χρήση της τεχνικής στον τομέα της τοξικολογίας.

- I. Οι [Lee, J.-Y., Kim et al., 2012] εξέτασαν τη σχέση βαρέων μετάλλων (Pb, Cd, Hg) με τη νόσο Alzheimer, με στόχο τόσο την ανάπτυξη και επικύρωση μιας αξιόπιστης μεθόδου ανάλυσης και τη σύγκριση των συγκεντρώσεων αυτών των στοιχείων σε ασθενείς και υγιείς άτομα (ομάδα ελέγχου). Για την ανάλυση των μόλυβδου και καδμίου χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ICP-MS, ενώ για τον υδράργυρο εφαρμόστηκε και αναλυτής με χρυσό αμάλγαμα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στο αίμα οι μέσες συγκεντρώσεις μόλυβδου ήταν 2,19 μg/dl στην ομάδα ελέγχου και 1,90 μg/dl στους ασθενείς, του καδμίου 1,06 μg/kg και 1,12 μg/kg αντίστοιχα, ενώ του υδραργύρου 3,23 μg/g και 2,93 μg/g. Στον ορό, ο μόλυβδος βρέθηκε 0,17 μg/dl στην ομάδα ελέγχου και 0,20 μg/dl στους ασθενείς, το κάδμιο ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης και στις 2 ομάδες (<0,07 μg/kg), ενώ ο υδράργυρος βρέθηκε 1,43 μg/g και 1,45 μg/g αντίστοιχα. Παρά τις μικρές διαφορές, καμία δεν ήταν στατιστικά σημαντική, γεγονός που δεν τεκμηριώνει τη σαφή συσχέτιση των βαρέων μετάλλων με τη νόσο. Η μελέτη υπογραμμίζει τη μεγάλη σημασία του ICP-MS, καθώς αποδείχθηκε ιδιαίτερα ακριβές, ευαίσθητο και αξιόπιστο εργαλείο με πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης και δυνατότητα ταυτόχρονης μέτρησης πολλών στοιχείων. Έτσι καθίσταται ιδανικό για τη βιοπαρακολούθηση βαρέων μετάλλων σε βιολογικά δείγματα.

- II. Οι [Guyot, E. et al., 2015] μελέτησαν τις συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων (Hg, Pb, Cd) σε φυσιολογικούς και παθολογικούς ιστούς ενδομήτριου, καθώς και της επίδρασής τους σε καλλιέργειες κυττάρων του ενδομήτριου (Ishikawa και Hec-1B). Οι ερευνητές ανέλυσαν βιοψίες από φυσιολογικό ενδομήτριο, από υπερπλασία και από αδenoκαρκίνωμα με τη μέθοδο ICP-MS, η οποία επιλέχθηκε λόγω της εξαιρετικής ευαισθησίας της και της δυνατότητας ταυτόχρονης ποσοτικοποίησης πολλών στοιχείων σε βιολογικούς ιστούς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υδράργυρος βρέθηκε σε τετραπλάσια συγκέντρωση στους υπερπλαστικούς ιστούς σε σχέση με το φυσιολογικό ενδομήτριο, ενώ για μόλυβδο, κάδμιο και βανάδιο δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές. Σε κυτταρικές δοκιμές, ο HgCl₂ προκάλεσε σε κύτταρα Ishikawa αύξηση δεικτών οξειδωτικού στρες (HO1, NQO1), μεταβολές στη μορφολογία με απώλεια ινών ακτίνης και αλλαγές στα μόρια προσκόλλησης. Ωστόσο δεν παρατηρήθηκε να υπάρχει σημαντική αλλαγή στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό των κυττάρων που θα οδηγούσε από μόνη της σε ανάπτυξη νεοπλασίας. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι υδράργυρος μπορεί να συμβάλλει σε πρώιμα στάδια ενδομητριακής δυσπλασίας, επηρεάζοντας το οξειδωτικό στρες και τη δομή του κυττάρου, αλλά πιθανόν να απαιτείται συνέργεια με άλλους παράγοντες για την πρόκληση καρκινογένεσης. Συνολικά, η μελέτη υπογραμμίζει τη σημασία του ICP-MS ως προηγμένο εργαλείο για τον ακριβή ποσοτικό προσδιορισμό βαρέων μετάλλων της ανθρώπινης τους και την κατανόηση του ρόλου τους σε ενδομητριακές παθήσεις.
- III. Οι [Henríquez-Hernández, L. A. et. al., 2017] ανέλυσαν τις συγκεντρώσεις τοξικών μετάλλων και σπάνιων γαιών, σε αίμα ατόμων με και χωρίς αναιμία. Στόχος ήταν να διερευνηθεί, αν η έκθεση σε στοιχεία που σχετίζονται με τα ηλεκτρονικά απόβλητα μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης. Συνολικά αναλύθηκαν 48 στοιχεία με τη μέθοδο ICP-MS, λόγω των εξαιρετικών πλεονεκτημάτων της. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι συμμετέχοντες που έπασχαν από αναιμία είχαν χαμηλότερα επίπεδα σιδήρου και αιμοσφαιρίνης σε σχέση με τους μη αναιμικούς (0,31 mg/ml < 0,43 mg/ml και 11,1 g/dL < 14,7 g/dl αντίστοιχα). Επιπλέον παρατηρήθηκαν σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις σε ορισμένα τοξικά μέταλλα και σπάνιες γαίες στους αναιμικούς. Ειδικότερα, βρέθηκαν

αυξημένα επίπεδα αρσενικού (3,08 ng/ml σε αναιμικούς έναντι 1,51 ng/ml), μόλυβδου (28,95 ng/ml έναντι 23,19 ng/ml) και βαρίου (1,17 ng/ml έναντι 0,0 ng/ml). Αντίστοιχα, το άθροισμα των σπάνιων γαιών και άλλων μικρών στοιχείων ήταν περίπου πενταπλάσιες στους αναιμικούς σε σχέση με τους μη αναιμικούς και παρουσιάζει ισχυρή αρνητική συσχέτιση με την αιμοσφαιρίνη.

- IV. Οι [Orr, S. E. Et al., 2018] διερεύνησαν πως η ταυτόχρονη έκθεση σε μείγματα βαρέων μετάλλων επηρεάζει την κατανομή και αποθήκευση των επιμέρους μετάλλων σε όργανα αρουραίων Wistar. Οι ερευνητές χορήγησαν αυτά είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμούς για 3 συνεχόμενες ημέρες και στη συνέχεια ανέλυσαν τις συγκεντρώσεις σε νεφρούς, ήπαρ, εγκέφαλο και αίμα με τη μέθοδο ICP-MS. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η συγχορήγηση Hg και Cd μείωσε κατά περίπου 50% τη συσσώρευση του πρώτου στους νεφρούς και σχεδόν κατά 97% στο ήπαρ σε σχέση με την έκθεση μόνο σε Hg. Παρόμοια, η παρουσία Hg μείωσε σημαντικά τα επίπεδα του Cd σε αίμα και νεφρούς, ενώ η επιπλέον παρουσία Pb και As δεν άλλαξε περαιτέρω τα επίπεδα. Αντίθετα, η συγχορήγηση Pb και As οδήγησε σε αυξημένη συσσώρευση και των δύο στο ήπαρ, ενώ τα επίπεδά τους σε αίμα, εγκέφαλο και νεφρούς μειώθηκαν σε σχέση με την έκθεση στο καθένα μεμονωμένα. Συνολικά η μελέτη κατέδειξε ότι τα μείγματα μετάλλων δεν δρουν απλά προσθετικά αλλά αλλάζουν σημαντικά τον τρόπο που καθένα κατανέμεται στον οργανισμό. Η χρήση του ICP-MS αποδείχθηκε καθοριστική, καθώς παρείχε ακριβή και συγκρίσιμα δεδομένα για πολλαπλά στοιχεία, ταυτόχρονα, ενισχύοντας την κατανόηση των μηχανισμών τοξικότητας στις συνθήκες ρεαλιστικής ταυτόχρονης έκθεσης.
- V. Οι [Ash, R. D., & He, M., 2018] παρουσίασαν την ανασύσταση ενός ανεξιχνίαστου περιστατικού δηλητηρίασης με θάλλιο στην Κίνα τη δεκαετία του 1990, χρησιμοποιώντας την τεχνική Laser Ablation ICP-MS (LA-ICP-MS) σε μεμονωμένες τρίχες της φοιτήτριας θύματος. Στόχος ήταν να καταγραφεί με ακρίβεια το χρονικό της δηλητηρίασης, το είδος της έκθεσης και η πιθανή εμπλοκή άλλων μετάλλων. Η ανάλυση τρίχας μήκους ~7 cm αποκάλυψε περίπου 25 διακριτές κορυφές θαλλίου. Οι συγκεντρώσεις έφταναν έως 530 ng/g, δηλαδή περίπου 200 φορές πάνω από τα ασφαλή επίπεδα (~2-3 ng/g), καταγράφοντας 4 μήνες

επαναλαμβανόμενης έκθεσης. Μια πολύ κοντή τρίχα ~0,7 cm, εμφάνισε εξαιρετικά υψηλά και συνεχόμενα επίπεδα θαλλίου (150-500 ng/g) και παράλληλη παρουσία μόλυβδου (έως 43 μg/g), γεγονός που δείχνει μια οξεία φάση δηλητηρίασης με πιθανή συνέκθεση. Το προφίλ συγκέντρωσης των μετάλλων με τα συμπτώματα της ασθενούς (ναυτία, παραισθήσεις, αλωπεκία, κώμα) έδειξε ότι η πρώτη φάση δηλητηρίαση ήταν χρόνια, με μικρές δόσεις θαλλίου, ενώ η δεύτερη ήταν οξεία, με συνεχείς και υψηλές δόσεις πιθανώς μαζί με μόλυβδο. Η μέθοδος LA-ICP-MS σε τρίχες επέτρεψε την εξαιρετικά λεπτομερή χρονολόγηση των εκθέσεων με ακρίβεια ημερών, κάτι που δεν είναι δυνατό με αίμα ή ούρα. Έτσι η συγκεκριμένη αναλυτική μέθοδος έχει ανεκτίμητη αξία σε ιατροδικαστικά περιστατικά βαριάς δηλητηρίασης, καθώς παρέχει υψηλή ευαισθησία, χρονική ανάλυση και δυνατότητα ταυτόχρονης ανίχνευσης πολλών στοιχείων.

5.6 Φασματοσκοπία Ατομικής Εκπομπής Επαγωγικά Συζευγμένου πλάσματος (ICP-OES)

Μια δεύτερη πολύ διαδεδομένη τεχνική είναι η ICP-OES, η οποία βασίζεται επίσης σε επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα, ωστόσο αντί για φασματομετρία μάζας, αξιοποιεί την οπτική εκπομπή ακτινοβολίας από διεγερμένα άτομα και ιόντα. Η εκπομπή φωτός σε συγκεκριμένα μήκη κύματος είναι χαρακτηριστική για κάθε στοιχείο και η έντασή της είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του. Η συγκεκριμένη τεχνική αποτελεί μια λιγότερο δαπανηρή εναλλακτική της πρώτης και προσφέρει πολύ καλή ακρίβεια για τις περισσότερες τοξικολογικές εφαρμογές, ειδικά σε επίπεδα ppm και ppb. Προσφέρει δυνατότητα αναλύσεις πολλών στοιχείων, αλλά εμφανίζει μικρότερη ευαισθησία συγκριτικά με την ICP-MS, γεγονός που την καθιστά λιγότερο κατάλληλη για την ανίχνευση κάποιων στοιχείων (Wikipedia Contributors, 2019).

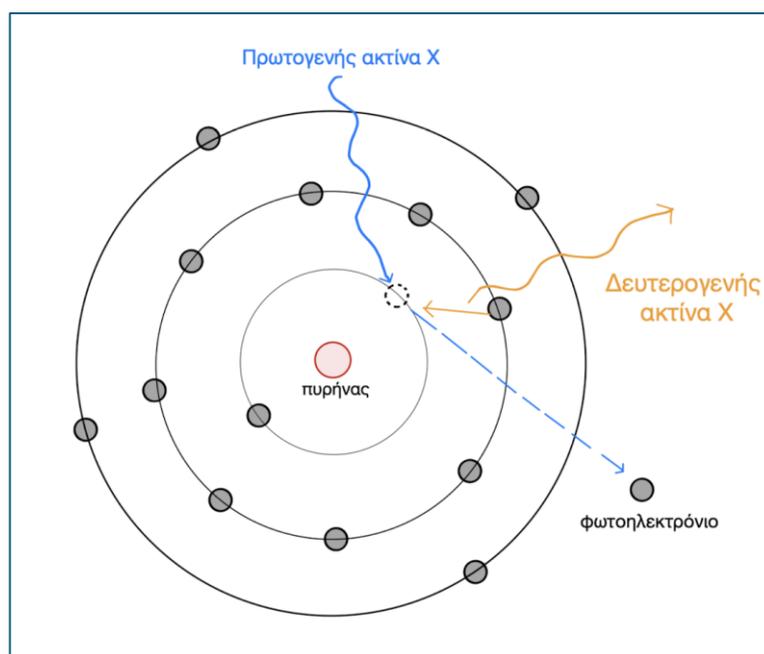
Η συγκεκριμένη μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί, για παράδειγμα, σε μια περίπτωση χρόνιας δηλητηρίασης μιας έφηβης με στοιχειακό υδράργυρο, όπου το ICP-OES εντόπισε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις στους νεφρούς και στο ήπαρ, επιβεβαιώνοντας την αξία της τεχνικής σε τοξικολογικές αναλύσεις (Lech, T., 2014). Άλλο ένα παράδειγμα αποτελεί μια μελέτη σύγκρισης συσσώρευσης βαρέων μετάλλων και ιχνοστοιχείων σε άγριες πέστροφες και εκτροφείου. Το ήπαρ εμφάνισε πολύ

υψηλότερες συγκεντρώσεις μετάλλων από τον μυϊκό ιστό, όπως για παράδειγμα ψευδάργυρος που έφτασε τα 128 $\mu\text{g/g}$ στο ήπαρ αγρίων ψαριών έναντι μόλις 20-46 $\mu\text{g/g}$ του μυϊκού ιστού. Οι άγριες πέστροφες είχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις σε Ba, Cr, Fe, Mn και Zn, ενώ οι εκτρεφόμενες σε Cu και Sr. Σημαντικό εύρημα ήταν ότι τα επίπεδα καδμίου ξεπέρασαν τα ευρωπαϊκά όρια σε περίπου 42-46% των δειγμάτων και του μόλυβδου στο 50-62% (Fallah, A. A. et al., 2011). Ένα τελευταίο χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η μελέτη των (Alrobaian, M., & Arida, H., 2019), όπου με ICP-OES βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα βαρέων μετάλλων στο αίμα και τα μαλλιά καπνιστών σε σχέση με μη καπνιστές. Στο αίμα οι καπνιστές είχαν κατά μέσο όρο 1,8 $\mu\text{g/l}$ Cd, 23 $\mu\text{g/l}$ Pb, 2,8 $\mu\text{g/l}$ Hg και 165 $\mu\text{g/l}$ Ni, έναντι 0,6, 21, 2,5 και 16 $\mu\text{g/l}$ αντίστοιχα στους μη καπνιστές. Στα μαλλιά οι διαφορές ήταν ακόμα εντονότερες με τον μόλυβδο να φτάνει έως 11,5 mg/kg στους καπνιστές έναντι 0,62 mg/kg στους μη καπνιστές. Όλες παραπάνω μελέτες δείχνουν την αξιοπιστία της μεθόδου σε τοξικολογικές μελέτες.

6. Ανάλυση Φθορισμού Ακτίνων X (X-ray fluorescence (XRF))

6.1 Αρχές Φθορισμού Ακτίνων X

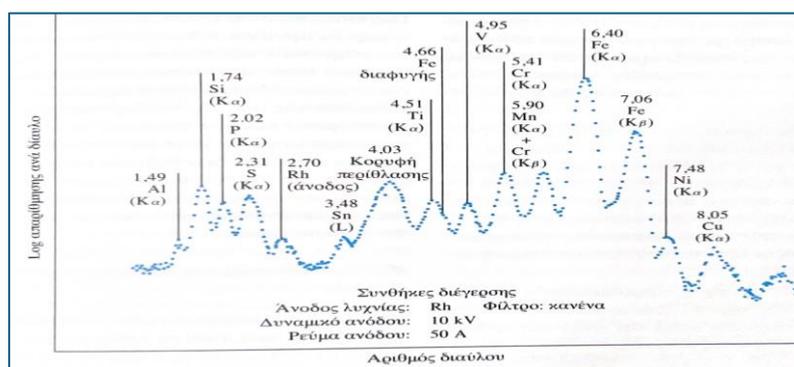
Η φασματοσκοπία φθορισμού ακτίνων X (XRF) στηρίζεται στην αλληλεπίδραση της ακτινοβολίας X με την ύλη και ειδικότερα στο φαινόμενο της εκπομπής δευτερογενούς ακτινοβολίας από τα άτομα. Όταν ένα δείγμα ακτινοβοληθεί με πρωτογενείς ακτίνες X επαρκούς ενέργειας, τα φωτόνια της ακτινοβολίας μπορούν να προκαλέσουν ιονισμό εσωτερικών ηλεκτρονιακών στιβάδων (συνήθως της K ή της L). Η απομάκρυνση ενός ηλεκτρονίου από αυτές τις στιβάδες δημιουργεί ένα κενό, το οποίο είναι ενεργειακά ασταθές. Για να αποκατασταθεί η σταθερότητα του ατόμου, ηλεκτρόνια από υψηλότερες στάθμες μεταπίπτουν προς τη χαμηλότερη, εκπέμποντας ταυτόχρονα φωτόνια ακτίνων X, ενέργειας ίση με τη διαφορά των ενεργειακών στοιβάδων που συμμετέχουν στη μετάβαση. Η εκπεμπόμενη αυτή ακτινοβολία ονομάζεται φθορισμός ακτίνων X και έχει χαρακτηριστικό ενεργειακό αποτύπωμα για κάθε στοιχείο, καθώς οι ενεργειακές διαφορές των στιβάδων είναι μοναδικές για κάθε ατομικό αριθμό (Skoog et al., 2021).



Εικόνα 11 : Σχηματική απεικόνιση της αρχής λειτουργίας της XRF

Η ανίχνευση και η ανάλυση της φθορίζουσας ακτινοβολίας επιτρέπουν τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των στοιχείων που υπάρχουν στο δείγμα. Ποιοτικά, η ταυτοποίηση βασίζεται στις χαρακτηριστικές ενέργειες ή μήκη κύματος της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας, ενώ ποσοτικά η ένταση των αντίστοιχων κορυφών είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του στοιχείου στο υλικό. Σημαντικό ρόλο παίζουν τα

φαινόμενα απορρόφησης και ενίσχυσης μεταξύ γειτονικών στοιχείων, τα οποία μπορεί να επηρεάσουν την ένταση των γραμμών και απαιτούν προσεκτική βαθμονόμηση ή μαθηματική διόρθωση (Skoog et al., 2021). Στην παρακάτω εικόνα απεικονίζεται ένα τυπικό φάσμα XRF, όπου καταγράφονται οι χαρακτηριστικές ακτινοβολίες για διάφορα στοιχεία ενός δείγματος. Μέσω αυτών των κορυφών καθίσταται δυνατή η ποιοτική και ποσοτική ανάλυση του δείγματος.



Εικόνα 12: Τυπικό φάσμα XRF (Skoog et al., 2021).

Ένα βασικό πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι πρόκειται για μια μη καταστρεπτική τεχνική, καθώς δεν απαιτείται χημική επεξεργασία ή ατμοποίηση του δείγματος. Επιπλέον, η XRF είναι ικανή να αναλύει άμεσα στερεά, σκόνες ή ακόμη και υγρά δείγματα, καλύπτοντας ένα μεγάλο εύρος στοιχείων, από το νάτριο μέχρι και τα βαρέα στοιχεία. Το εύρος και η ακρίβεια εξαρτώνται τόσο από την ενέργεια της πρωτογενούς ακτινοβολίας όσο και από τις ιδιότητες απορρόφησης του ίδιου του δείγματος. Η τεχνική διακρίνεται σε δύο κύριες προσεγγίσεις: την φασματοσκοπία μήκους κύματος (WDXRF), όπου οι φθορίζουσα ακτινοβολία διαχωρίζεται με κρυσταλλικούς αναλυτές και την φασματοσκοπία ενεργειακής διασποράς (EDXRF) όπου η διάκριση των στοιχείων επιτυγχάνεται μέσω ανιχνευτών ημιαγωγών υψηλής ανάλυσης. Και στις δύο περιπτώσεις η θεμελιώδης αρχή παραμένει η ίδια δηλαδή, η εκπομπή χαρακτηριστικής ακτινοβολίας από τα διεγερμένα άτομα αποτελεί το μέσο ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης των στοιχείων (Skoog et al., 2021).

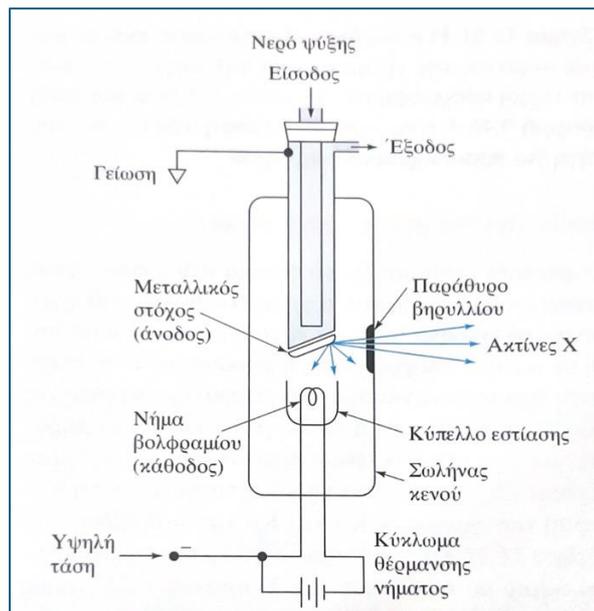
6.2 Κύρια Όργανα Φασματοσκοπίας Φθορισμού Ακτίνων X

Η οργανολογία της φασματοσκοπίας φθορισμού ακτίνων X αποτελείται από τρία βασικά τμήματα : την πηγή διέγερσης, το σύστημα φασματοσκοπικής ανάλυσης και τον ανιχνευτή. Αρχικά, απαιτείται μια πηγή ακτινοβολίας, η οποία είναι συνήθως ένας σωλήνας παραγωγής ακτίνων X ή σε ορισμένες περιπτώσεις μια ραδιοϊσοτοπική

λυχνία. Η πρωτογενής ακτινοβολία που παράγεται κατευθύνεται προς το δείγμα, προκαλώντας τον ιονισμό εσωτερικών στοιβάδων των ατόμων και την εκπομπή φθορίζουσας ακτινοβολίας. Η δευτερογενής αυτή ακτινοβολία οδηγείται στο σύστημα φασματικής ανάλυσης, το οποίο μπορεί να βασίζεται είτε στη διάκριση κατά μήκος κύματος είτε στην ενεργειακή διασπορά, ώστε να γίνει διαχωρισμός των γραμμών που αντιστοιχούν σε κάθε στοιχείο. Στη συνέχεια, ο ανιχνευτής καταγράφει τα φωτόνια και τα μετατρέπει σε ηλεκτρικό σήμα, το οποίο μέσω των κατάλληλων ηλεκτρονικών συστημάτων επεξεργάζεται και εμφανίζεται στην οθόνη ως φάσμα. Με τον τρόπο αυτό, η συνεργασία αυτών των τμημάτων εξασφαλίζει την ποιοτική και ποσοτική πληροφορία που παρέχει η τεχνική (Skoog et al., 2021).

6.3 Πηγές Ακτινοβολίας

Στην XRF η διέγερση του δείγματος προέρχεται κυρίως από σωλήνα (λυχνία) ακτίνων X (γνωστή και ως λυχνία Coolidge), όπου ηλεκτρόνια που εκπέμπονται από μια θερμαινόμενη κάθοδο νήματος βολφραμίου επιταχύνονται σε υψηλή τάση και προσπίπτουν στην άνοδο στόχο. Η άνοδος στόχος αποτελείται από ένα συμπαγές τεμάχιο χαλκού όπου στην επιφάνεια του ηλεκτροαποτίθεται ή προσαρμόζεται το μέταλλο-στόχος. Συνήθως στόχοι αποτελούν τα μέταλλα βολφράμιο, χρώμιο, μολυβδαίνιο, χαλκός, ρόδιο, κοβάλτιο, σίδηρος, άργυρος ή σκάνδιο. Η κάθοδος κατασκευάζεται έτσι ώστε η δέσμη ηλεκτρονίων που προσκρούουν στην άνοδο να εστιάζεται αποκλειστικά σε αυτή. Η θέρμανση του νήματος και η επιτάχυνση των ηλεκτρονίων προς τον στόχο επιτυγχάνονται μέσω ανεξάρτητων κυκλωμάτων. Το κύκλωμα θέρμανσης ρυθμίζει την ένταση, ενώ η επιταχυνόμενη τάση καθορίζει την ενέργεια ή αντίστοιχα το μήκος κύματος της παραγόμενης ακτινοβολίας X. Για ακριβείς ποσοτικές μετρήσεις και τα δύο κυκλώματα πρέπει να τροφοδοτούνται από σταθεροποιημένα συστήματα, ώστε οι διακυμάνσεις ρεύματος ή τάσης να παραμένουν κάτω από το 0.1% (Skoog et al., 2021).



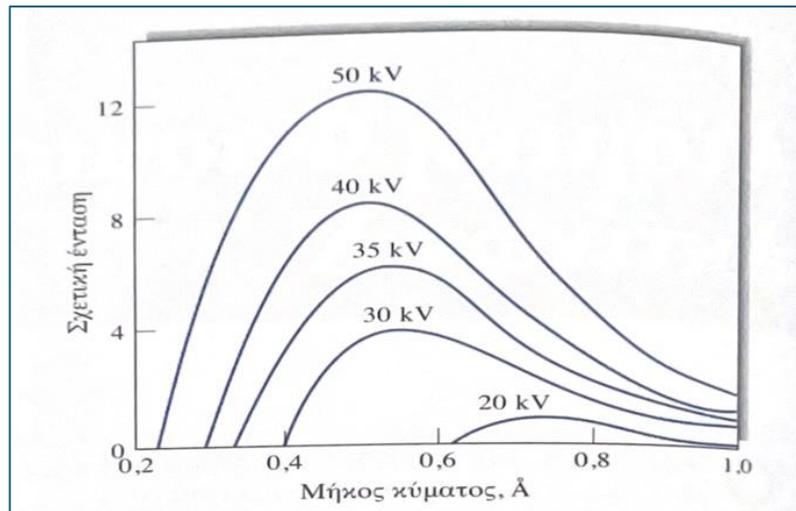
Εικόνα 13 : Λυχνία Coolidge (Skoog et al., 2021).

Όταν τα ηλεκτρόνια προσπίπτουν στην άνοδο παράγεται ακτινοβολία X. Το ενεργειακό φάσμα που δημιουργείται είναι ευρύ, ακόμη και αν η διαφορά δυναμικού ανάμεσα στην άνοδο και την κάθοδο παραμένει σταθερή και υψηλή. Διακρίνονται δύο χαρακτηριστικά φάσματα : το συνεχές, το οποίο σχηματίζεται από φωτόνια με ενέργεια που κυμαίνεται από μηδέν έως μία μέγιστη τιμή και απεικονίζεται ως καμπύλη με χαρακτηριστικό μέγιστο και το γραμμικό ή χαρακτηριστικό φάσμα, που εμφανίζεται ως αιχμηρές κορυφές σε συγκεκριμένες τιμές ενέργειας. Οι κορυφές αυτές είναι ενδεικτικές του υλικού από το οποίο αποτελείται η άνοδος (Ψαρρακός Κ., 2012).

- **Συνεχές φάσμα ή ακτινοβολία πέδησης (Bremsstrahlung) :** Οφείλεται στις απότομες μεταβολές της ταχύτητας των ηλεκτρονίων όταν αλληλεπιδρούν με το πεδίο του πυρήνα της ανόδου. Εάν η αρχική κινητική ενός ηλεκτρονίου είναι E_1 και μετά την αλληλεπίδραση μειωθεί σε E_2 , τότε εκπέμπεται φωτόνιο με ενέργεια ίση με :

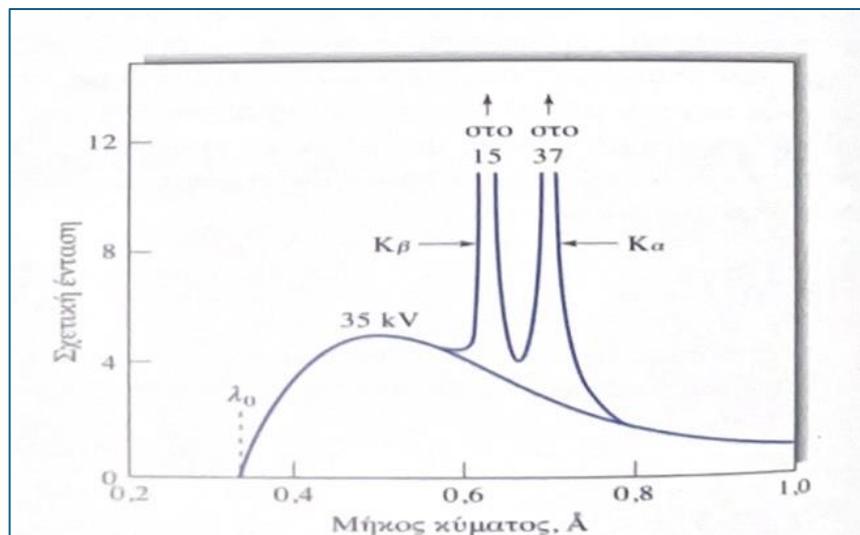
$$h * \nu = E_1 - E_2$$

Στη περίπτωση όπου όλη η κινητική ενέργεια αποδοθεί, η μέγιστη τιμή θα είναι $E_1 = h * \nu_{\max}$. Η μέγιστη κινητική ενέργεια που μπορεί να αποκτήσει το ηλεκτρόνιο στη λυχνία καθορίζεται από το γινόμενο $e * V$, όπου V η διαφορά τάσης καθόδου ανόδου. Η κορυφή μέγιστης έντασης του συνεχώς φάσματος αντιστοιχεί περίπου στο 1/3 της μέγιστης ενέργειας των φωτονίων (Ψαρρακός Κ., 2012).



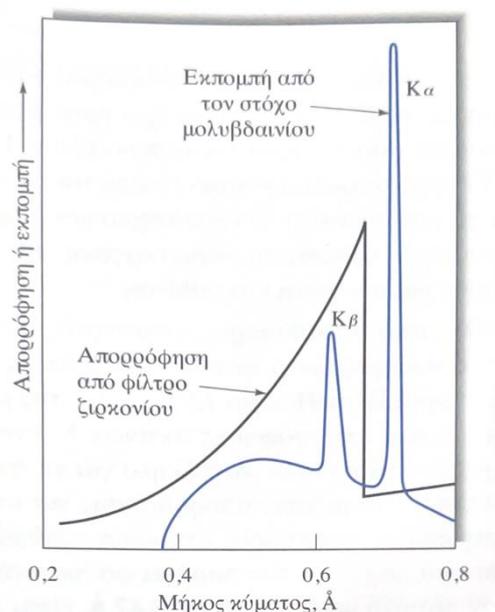
Εικόνα 14 : Συνεχές φάσμα (Skoog et al., 2021).

- Γραμμικό ή χαρακτηριστικό φάσμα :** Προέρχεται από τις μεταβάσεις ηλεκτρονίων σε χαμηλότερες ενεργειακές στιβάδες μετά την απομάκρυνση ή διέγερση δεσμευμένων ηλεκτρονίων του υλικού της ανόδου. Έτσι απελευθερώνεται ακτινοβολία X ενεργείας ίση με την ενεργειακή διαφορά των δύο στοιβάδων. (Ψαρρακός Κ., 2012).



Εικόνα 15 : Γραμμικό φάσμα (Skoog et al., 2021).

Σε αρκετές περιπτώσεις απαιτείται η παραγωγή δέσμης ακτίνων X με περιορισμένο εύρος τιμών στο μήκος κύματος. Για την επίτευξη αυτού του σκοπού εφαρμόζονται φίλτρα και μονοχρωμάτορες. Τα φίλτρα κατασκευάζονται από λεπτά φύλλα μετάλλων και αξιοποιούν τη διαφορετική ικανότητα απορρόφησης κάθε υλικού σε συγκεκριμένες ενεργειακές περιοχές. Με αυτόν τον τρόπο μειώνονται ανεπιθύμητα τμήματα του συνεχούς φάσματος και εξασθενεί η παρουσία χαρακτηριστικών γραμμών της ανόδου που θα μπορούσαν να προκαλέσουν επικάλυψη με τις γραμμές φθορισμού του δείγματος. Οι μονοχρωμάτορες, από την άλλη πλευρά, στηρίζονται στη συμβολή κρυστάλλων που υπακούουν στο νόμο του Bragg, ανακλώντας μόνο ακτινοβολία συγκεκριμένου μήκους κύματος ανάλογα με τη γωνία πρόσπτωσης. Έτσι, επιτυγχάνεται εκλεκτική επιλογή φωτονίων με στενό ενεργειακό εύρος, κάτι που βελτιώνει τον λόγο σήματος προς θόρυβο και αυξάνει την ακρίβεια της ανάλυσης. Ο συνδυασμός φίλτρων και μονοχρωματόρων επιτρέπει την προσαρμογή της πρωτογενούς ακτινοβολίας ανάλογα με το στοιχείο στόχο και τη μήτρα του δείγματος, εξασφαλίζοντας πιο καθαρό και αξιόπιστο φάσμα (Skoog et al., 2021).



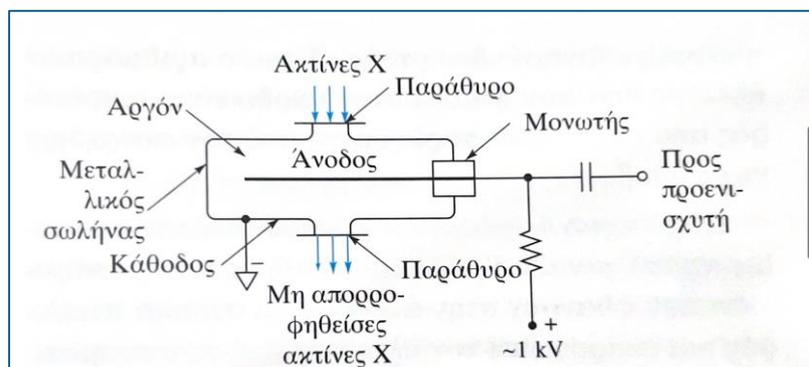
Εικόνα 16: Επιλογή κατάλληλου μήκους κύματος με την χρήση φίλτρου (Skoog et al., 2021).

Πέρα από τη χρήση λυχνιών, σε αναλυτικές τεχνικές φθορισμού και απορρόφησης με ακτίνες X έχουν αξιοποιηθεί και διάφορα ραδιενεργά ισότοπα, όπως το ^{55}Fe και το ^{109}Cd ως πηγές ακτινοβολίας. Συνήθως τα ραδιοϊσότοπα αυτά τοποθετούνται σε ειδικές κάψουλες για την αποφυγή επιμόλυνσης του εργαστηρίου και θωρακίζονται κατάλληλα, ώστε η εκπεμπόμενη ακτινοβολία να κατευθύνεται αποκλειστικά προς μη επιθυμητή διεύθυνση. Ορισμένα ραδιοϊσότοπα που χρησιμοποιούνται ως πηγές στην XRF εκπέμπουν κυρίως γραμμική ακτινοβολία στις συγκεκριμένες ενέργειες, ενώ άλλα παράγουν συνεχή φάσματα. Λόγω της παρουσίας χαρακτηριστικών κορυφών απορρόφησης στις καμπύλες αλληλεπίδρασης ακτίνων X με την ύλη, κάθε ισότοπο είναι καταλληλότερο για την διέγερση στοιχείων ενός συγκεκριμένου εύρους ατομικών αριθμών ή για εξειδικευμένες εφαρμογές φθορισμού και απορρόφησης (Skoog et al., 2021).

6.4 Ανιχνευτές-μεταλλάκτες

Οι ανιχνευτές αποτελούν κρίσιμο κομμάτι της φασματοσκοπίας φθορισμού ακτίνων X, καθώς μετατρέπουν τη φθορίζουσα ακτινοβολία σε ηλεκτρικό σήμα το οποίο μπορεί να καταγραφεί και να αναλυθεί. Υπάρχουν 3 βασικοί τύποι μεταλλακτών: οι μεταλλάκτες ιοντισμού αερίου, οι απαριθμητές σπινθηρισμών και οι ημιαγωγοί μεταλλάκτες. Και οι 3 λειτουργούν ουσιαστικά ως απαριθμητές φωτονίων, καταγράφοντας τους παλμούς φορτίου που δημιουργούνται από την απορρόφηση φωτονίων ακτινοβολίας X. Με αυτόν τον τρόπο η ένταση της δέσμης αποδίδεται ως αριθμός παλμών ανά μονάδα χρόνου, γεγονός που καθιστά την τεχνική κατάλληλη για πηγές χαμηλής έντασης επιτρέποντας την αξιόπιστη μέτρηση.

- α) Μεταλλάκτες ιοντισμού αερίου :** Ο ανιχνευτής αποτελείται από έναν θάλαμο γεμάτο αδρανές αέριο όπως το αργό, ανάμεσα σε 2 ηλεκτρόδια με εφαρμοσμένη διαφορά δυναμικού. Όταν ένα φωτόνιο X από το δείγμα εισέρχεται στο θάλαμο, αλληλεπιδρά με τα άτομα του αερίου και προκαλεί ιονισμό δημιουργώντας ζεύγη ηλεκτρονίων-ιόντων. Τα ηλεκτρόνια που απελευθερώνονται επιταχύνονται προς την άνοδο, ενώ τα κατιόντα κινούνται προς την κάθοδο. Η κίνηση αυτών των φορτισμένων σωματιδίων δημιουργεί έναν παλμό ηλεκτρικού ρεύματος, ο οποίος μπορεί να ανιχνευθεί. Το πλάτος αυτού του παλμού είναι ανάλογο προς την ενέργεια του φωτονίου που προκάλεσε τον ιονισμό. Με αυτό τον τρόπο μεταλλάκτης μετατρέπει την ακτινοβολία σε ηλεκτρικό σήμα, το οποίο στη συνέχεια επεξεργάζεται σε υπολογιστή ώστε να δώσει πληροφορίες για την ένταση. Οι μεταλλάκτες ιοντισμού αερίου κατατάσσονται σε σωλήνες Geiger-Mueller, αναλογικούς απαριθμητές και θαλάμους ιονισμού (Skoog et al., 2021, Ψαρρακός K., 2012).



Εικόνα 17 : Μεταλλάκτης ιοντισμού αερίου (Skoog et al., 2021).

- b) **Απαριθμητές σπινθηρισμών :** η λειτουργία τους βασίζεται στο φαινόμενο του σπινθηρισμού, δηλαδή στην εκπομπή φωτός όταν κάποιο υλικό απορροφήσει ακτινοβολία. Το σπινθηριστικό υλικό που χρησιμοποιείται συνήθως είναι το ιωδιούχο νάτριο εμπλουτισμένο με θάλλιο (NaI(Tl)). Όταν ένα φωτόνιο απορροφηθεί από το υλικό, η ενέργειά του διεγείρει τα άτομα και κατά την αποδιέγερση αυτά εκπέμπουν φωτόνια ορατού φωτός. Τα φωτόνια αυτά συλλέγονται από έναν φωτοπολλαπλασιαστή, ο οποίος τα μετατρέπει σε ηλεκτρόνια και τα ενισχύει μέσω διαδοχικών ηλεκτροδίων (δύνοδοι) ώστε να προκύψει ένας ανιχνεύσιμος παλμός ηλεκτρικού ρεύματος. Το μέγεθος του παλμού είναι ανάλογο με την ενέργεια του φωτονίου που προκάλεσε τον σπινθηρισμό (Skoog et al., 2021, Ψαρράκος Κ., 2012).
- c) **Ημιαγωγοί μεταλλάκτες :** αποτελούν την πιο σύγχρονη και διαδεδομένη κατηγορία ανιχνευτών στη φασματομετρία φθορισμού ακτίνων X. Η λειτουργία τους βασίζεται στις ιδιότητες των ημιαγωγών, όπως το πυρίτιο, οι οποίοι έχουν τη δυνατότητα να μετατρέπουν την ενέργεια της εισερχόμενης ακτινοβολίας σε ηλεκτρικά φορτία. Όταν ένα φωτόνιο απορροφηθεί μέσα στον κρύσταλλο του ημιαγωγού, η ενέργειά του δαπανάται για τη δημιουργία ζευγών ηλεκτρονίων-οπών. Με την εφαρμογή εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου τα ηλεκτρόνια οδηγούνται προς την άνοδο και οι οπές προς την κάθοδο με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένας παλμός ηλεκτρικού ρεύματος. Ο αριθμός των ζευγών και επομένως το μέγεθος του παλμού είναι ευθέως ανάλογος με την ενέργεια του φωτονίου που προκάλεσε την αλληλεπίδραση. Έτσι επιτρέπεται η πολύ ακριβής μέτρηση της ενέργειας της ακτινοβολίας X. Η μεγαλύτερη υπεροχή σε σχέση με τους ανιχνευτές αερίου ή τους απαριθμητές σπινθηρισμών είναι η υψηλή διακριτική ικανότητα, η οποία τους επιτρέπει να ξεχωρίζουν με σαφήνεια γραμμές φθορισμού από διαφορετικά στοιχεία ακόμα και όταν οι ενέργειές τους είναι πολύ κοντινές (διαφορά 1-2 keV). Στην πράξη ο ανιχνευτής πυριτίου διάχυσης λιθίου (Si(Li)) ήταν ο πρώτος που χρησιμοποιήθηκε ευρέως, όμως απαιτούσε ψύξη με υγρό άζωτο για να μειωθεί ο θερμικός θόρυβος. Σήμερα έχουν αντικατασταθεί σε μεγάλο βαθμό από τους ανιχνευτές διάχυσης πυριτίου, οι οποίοι λειτουργούν αποδοτικά και με απλή ψύξη μέσω στοιχείων Peltier, καθιστώντας τα συστήματα πιο εύχρηστα και συμπαγή. (Skoog et al., 2021, Ψαρράκος Κ., 2012)

6.5 Επεξεργασία Σήματος

Στην φασματοσκοπία φθορισμού ακτίνων X, το ηλεκτρικό σήμα που παράγεται από τον ανιχνευτή είναι ιδιαίτερα ασθενές και πρέπει να ενισχυθεί και να υποστεί επεξεργασία πριν μετατραπεί σε χρήσιμη πληροφορία. Το πρώτο στάδιο αυτής της διαδικασίας είναι ο προενισχυτής, ο οποίος λαμβάνει το αρχικό φορτίο που δημιουργείται στον ανιχνευτή και το μετατρέπει σε παλμό τάσης μικρού πλάτους, σταθεροποιώντας παράλληλα τη διάρκεια και το σχήμα του σήματος. Έτσι διασφαλίζεται ότι η πληροφορία της ενέργειας του φωτονίου δεν χάνεται κατά τη μεταφορά στο επόμενο κύκλωμα (Skoog et al., 2021).

Από τον προενισχυτή το σήμα οδηγείται σε γραμμικό ενισχυτή ταχείας απόκρισης, ο οποίος μπορεί να αυξήσει την απόκριση του έως και 10.000 φορές, με αποτέλεσμα την παραγωγή παλμών που φτάνουν μέχρι περίπου τα 10V. Στη συνέχεια, χρησιμοποιούνται επιλογείς ύψους παλμών, δηλαδή ηλεκτρονικά κυκλώματα που απορρίπτουν σήματα εκτός ενός προκαθορισμένου διαστήματος. Συγκεκριμένα απορρίπτονται παλμοί χαμηλότεροι από μια ελάχιστη τιμή π.χ. 0.5V, καθώς και παλμοί υψηλότεροι από μια μέγιστη τιμή που ορίζει ο χρήστης. Έτσι, παραμένουν μόνο οι παλμοί που αντιπροσωπεύουν πραγματικά γεγονότα φθορισμού μέσα στο «παράθυρο» παρατήρησης (Skoog et al., 2021).

Ακολούθως, το σήμα υποβάλλεται σε επεξεργασία μέσω αναλυτών ύψους παλμών. Ένας μονοδιαυλικός αναλυτής μπορεί να δεχθεί σήματα τάσης περίπου 10V και διαθέτει παράθυρο εύρους 0.1-0.5V, επιτρέποντας την επιλεκτική παρατήρηση μιας στενής ενεργειακής περιοχής. Οι πολυδιαυλικοί αναλυτές διαθέτουν πολλές εκατοντάδες ή και χιλιάδες τέτοια «παράθυρα», καθένα από τα οποία καταγράφει παλμούς διαφορετικού ύψους, με αποτέλεσμα την ταυτόχρονη απεικόνιση ενός πλήρους φάσματος ενεργειών (Skoog et al., 2021).

Τέλος, το σήμα καταγράφεται με απαριθμητές και διαιρέτες συχνότητας, ώστε να υπολογίζεται με ακρίβεια ο ρυθμός καταγραφής των παλμών. Οι απαριθμητές αυτοί προσαρμόζονται στις συνθήκες λειτουργίας μειώνοντας τη συχνότητα σε υποπολλαπλάσια, ώστε να διατηρείται η αξιοπιστία της μέτρησης. Με αυτόν τον τρόπο, η αρχική πληροφορία που ξεκινά ως αδύναμο ηλεκτρικό σήμα μετατρέπεται σταδιακά σε φάσμα ακτίνων X, όπου οι κορυφές αντιστοιχούν σε χαρακτηριστικές γραμμές των στοιχείων που περιέχει το δείγμα (Skoog et al., 2021).

6.6 Όργανα

Η φασματοσκοπία XRF διακρίνεται σε δύο κύριες τεχνικές, την φασματοσκοπία διασπορά μήκους κύματος (Wavelength Dispersive XRF, WD-XRF) και την φασματοσκοπία ενεργειακής διασποράς (Energy Dispersive XRF, ED-XRF). Και οι δύο στηρίζονται στο ίδιο φυσικό φαινόμενο του φθορισμού, αλλά διαφοροποιούνται στον τρόπο με τον οποίο πραγματοποιείται η φασματική διάκριση.

Η φασματοσκοπία WD-XRF, χρησιμοποιεί πάντοτε ως πηγή σωλήνες ακτίνων X, καθώς οι ραδιοϊσοτοπικές πηγές δεν παρέχουν επαρκή ένταση για να καλύψουν τις απώλειες που προκύπτουν κατά την παραλληλοποίηση και διασπορά της δέσμης. Η βασική αρχή βασίζεται στο νόμο του Bragg, όπου η φθορίζουσα ακτινοβολία που προέρχεται από το δείγμα προσπίπτει σε έναν κρύσταλλο, ο οποίος ανακλά μόνο τα μήκη κύματος που ταιριάζουν με τη γεωμετρία της διάταξης. Με αυτόν τον τρόπο κάθε στοιχείο ξεχωρίζει μέσα στο φάσμα με μεγάλη καθαρότητα ακόμη και όταν οι γραμμές του βρίσκονται πολύ κοντά ενεργειακά με άλλα στοιχεία. Τα όργανα του WD-XRF διακρίνονται σε μονοδιαυλικά και πολυδιαυλικά. Στα μονοδιαυλικά, ο κρύσταλλος και ανιχνευτής ρυθμίζονται σε διαφορετικές γωνίες ώστε να μετριέται κάθε φορά ένα μόνο στοιχείο. Έτσι απαιτείται διαδοχική σάρωση για να ληφθεί πλήρες φάσμα, γεγονός που αυξάνει το χρόνο ανάλυσης. Αντίθετα, τα πολυδιαυλικά συστήματα διαθέτουν πολλούς κρυστάλλους και ανιχνευτές τοποθετημένους σε διαφορετικές θέσεις, ώστε να μπορούν να ανιχνεύουν ταυτόχρονα μεγάλο αριθμό στοιχείων. Αυτό τους δίνει σημαντικό πλεονέκτημα ταχύτητας, αφού μέσα σε ελάχιστα δευτερόλεπτα μπορούν να προσδιορίσουν μέχρι και μερικές δεκάδες στοιχεία με υψηλή ακρίβεια (Skoog et al., 2021).

Φυσικά, η πολυπλοκότητα ανακλάται και στο κόστος. Ένα μονοδιαυλικό σύστημα, αν και πιο οικονομικό, ξεπερνά συνήθως τις 50.000\$, ενώ τα πολυδιαυλικά, με τη δυνατότητα ταυτόχρονης ανάλυσης και πλήρης αυτοματοποίησης, ξεκινούν από πολύ υψηλότερες τιμές που συχνά υπερβαίνουν τις 150.000\$. Σε αυτά, κάθε κανάλι διαθέτει δικό του ενισχυτή και τα δικά του ηλεκτρονικά συστήματα επεξεργασίας, ώστε η καταγραφή να γίνεται με τον μέγιστο δυνατό ρυθμό και ακρίβεια (Skoog et al., 2021).

Όσον αφορά τα δείγματα, το WD-XRF μπορεί να αναλύσει στερεά, σκόνες και υγρά. Πολλές φορές ορισμένα δείγματα απαιτείται να τοποθετηθούν σε ειδική κυψελίδα με παράθυρα Mylar ή όξινης κυτταρίνης, ώστε να συγκρατούνται χωρίς να

απορροφώνται σημαντικά οι ακτίνες X (Skoog et al., 2021). Το συγκεκριμένο σύστημα μπορεί να ανιχνεύσει ένα ευρύ φάσμα στοιχείων, ακόμη και πολύ ελαφρά, καθώς η WD-XRF παρουσιάζει μεγαλύτερη ικανότητα ανίχνευσης σε σχέση με τη ED-XRF. Η τεχνική αυτή καλύπτει στοιχεία από το βηρύλλιο (Be, $Z=4$) έως και το ουράνιο (U, $Z=92$), γεγονός που καθίσταται εφικτό χάρη στη διάταξη με κρύσταλλο και χρήση κενού/ηλίου στο θάλαμο. Αυτό επιτρέπει την ανίχνευση ακτίνων X χαμηλής ενέργειας (Satyendra, 2022)

Η φασματοσκοπία φθορισμού ακτίνων X με διασπορά ενέργειας (ED-XRF) βασίζεται στη χρήση ανιχνευτών που καταγράφουν απευθείας την ενέργεια των φωτονίων χωρίς να απαιτείται κρυσταλλικός μονοχρωματισμός, όπως συμβαίνει στη WD-XRF. Ένα τυπικό όργανο ED-XRF περιλαμβάνει μια πολυχρωματική πηγή ακτίνων X (σωλήνα ή ραδιοϊσότοπο), έναν υποδοχέα δειγμάτων, ημιαγωγικό ανιχνευτή και την απαραίτητη ηλεκτρονική διάταξη για τη διαχείριση και την ανάλυση των παλμών. Το σήμα που παράγεται από τον ανιχνευτή ταξινομείται απευθείας κατά ενέργεια, με αποτέλεσμα να καταγράφεται ταυτόχρονα το πλήρες φάσμα της ακτινοβολίας (Skoog et al., 2021).

Κύριο πλεονέκτημα της ED-XRF είναι η απλότητα της διάταξης τους, καθώς δεν διαθέτουν κινούμενα μέρη στα τμήματα διέγερσης και ανίχνευσης του φασματομέτρου. Παράλληλα, η απουσία κατευθυντήριων μηχανισμών και περιθλαστικού κρυστάλλου, σε συνδυασμό με τη μικρή απόσταση μεταξύ δείγματος και ανιχνευτή, οδηγεί σε αύξηση της έντασης της ακτινοβολίας που φτάνει στον ανιχνευτή κατά εκατό ή και περισσότερες φορές. Εξαιτίας αυτής της διαμόρφωσης, τα όργανα αυτά μπορούν να χρησιμοποιήσουν τους σωλήνες χαμηλότερης ισχύος, που είναι φθηνότεροι και λιγότερο καταστροφικοί για τα δείγματα. Επιπλέον, το συνολικό κόστος ενός συστήματος διασποράς ενέργειας είναι γενικά 4 έως 5 φορές χαμηλότερο από το αντίστοιχο ενός WD-XRF (Skoog et al., 2021).

Η χρήση πολυδιαυλικών ηλεκτρονικών συστημάτων καθιστά δυνατή την ταυτόχρονη μέτρηση όλων των ενεργητικών γραμμών, βελτιώνοντας σημαντικά τον λόγο σήματος προς θόρυβο (S/N) και αυξάνοντας την ευαισθησία. Το φαινόμενο αυτό, γνωστό και ως πλεονέκτημα Fellgett, ενισχύει την αξιοπιστία της μεθόδου σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Ωστόσο το βασικό μειονέκτημα της ED-XRF σε σχέση με τη WD-XRF είναι η χαμηλότερη διακριτική ικανότητα σε μεγάλα μήκη κύματος (πάνω από $\sim 1 \text{ \AA}$),

γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε αλληλεπικαλύψεις γραμμών. Παρά ταύτα, σε μικρότερες τιμές μήκους κύματος η ανάλυση παραμένει ιδιαίτερα ικανοποιητική (Skoog et al., 2021).

Η τεχνολογική πρόοδος στους ανιχνευτές έχει ενισχύσει ακόμα περισσότερο τη δυναμική της ED-XRF. Οι ανιχνευτές τύπου SSD επιτρέπουν την καταγραφή με υψηλή ανάλυση και ελάχιστο νεκρό χρόνο, ακόμα και στις συνθήκες υψηλού ρυθμού καταμέτρησης. Αυτό άνοιξε τον δρόμο για φορητά φασματομέτρα, τα οποία χρησιμοποιούνται σε γεωλογικές αρχαιολογικές και περιβαλλοντικές έρευνες, αλλά και σε βιομηχανικούς ποιοτικούς ελέγχους. Οι συσκευές αυτές είναι συχνά εξοπλισμένες με μικρούς σωλήνες ακτίνων X, προγραμματιζόμενα φίλτρα και υπολογιστικά συστήματα επεξεργασίας, λειτουργούν με μπαταρίες ιόντων λιθίου και ζυγίζουν περίπου 1,5 κιλό, γεγονός που τις καθιστά εξαιρετικά ευέλικτες (Skoog et al., 2021).

Συνολικά, η ED-XRF προσφέρει έναν πρακτικό και οικονομικά προσιτό τρόπο για τον ταχύ προσδιορισμό μεγάλου αριθμού στοιχείων, από το νάτριο μέχρι το ουράνιο (Satyendra, 2022). Αν και δεν φτάνει το επίπεδο φασματικής καθαρότητας της WD-XRF, η δυνατότητα της να λειτουργεί με απλή και φορητή οργάνολογία την καθιστά ιδιαίτερα ελκυστική για καθημερινές εφαρμογές σε ερευνητικά και βιομηχανικά περιβάλλοντα (Skoog et al., 2021).

Εκτός από αυτές τις δυο κύριες μορφές, τα τελευταία χρόνια έχει αναπτυχθεί και η micro-XRF. Ουσιαστικά αποτελεί μια παραλλαγή της κλασικής φασματοσκοπίας φθορισμού ακτίνων X, όπου η πρωτογενής δέσμη εστιάζεται σε πολύ μικρές περιοχές του δείγματος. Η εστίαση επιτυγχάνεται με τη χρήση πολυτριχοειδών οπτικών διατάξεων και οπτικών συστημάτων εστίασης κρυστάλλων, τα οποία συμπυκνώνουν την ακτινοβολία σε μικροσκοπικό άνοιγμα. Με αυτόν τον τρόπο καθίσταται δυνατός ο στοιχειακός προσδιορισμός και η χαρτογράφηση της κατανομής των στοιχείων σε μικρές δομές ή ανομοιογενείς επιφάνειες. Το βασικό μειονέκτημα είναι ότι η δέσμη που εστιάζεται σε τόσο μικρή διάμετρο έχει χαμηλότερη ένταση, γεγονός που μπορεί να περιορίσει την ευαισθησία. Οι σύγχρονες εξελίξεις στην τεχνολογία των πηγών και των οπτικών συστημάτων, ωστόσο, έχουν βελτιώσει σημαντικά την απόδοση και έχουν καταστήσει τη micro-XRF αξιόπιστη μέθοδο μικροανάλυσης. Τα τελευταία χρόνια, η συγκεκριμένη μέθοδος έχει βρει πολλές

εφαρμογές στον τομέα των πολύτιμων μετάλλων και στην εγκληματολογική ανάλυση (Skoog et al., 2021).

Τέλος, υπάρχει και η φασματοσκοπία φθορισμού ακτίνων Χ ολικής ανάκλασης (TXRF), που έχει σχεδιαστεί για την ανάλυση εξαιρετικά μικρών ποσοτήτων δείγματος με πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης. Η μέθοδος βασίζεται στο γεγονός ότι η εισερχόμενη δέσμη ακτίνων Χ προσπίπτει στο δείγμα υπό γωνία μικρότερη από τη γωνία ολικής ανάκλασης. Υπό αυτές τις συνθήκες, η πρωτογενής ακτινοβολία δεν διεισδύει σημαντικά στο υπόστρωμα, μειώνοντας έτσι τις συνεισφορές της διασποράς και των φαινομένων μήτρας. Η πρακτική εφαρμογή της TXRF πραγματοποιείται με την τοποθέτηση λεπτού στρώματος δείγματος πάνω σε λείο υπόστρωμα. Λόγω του φαινομένου της ολικής ανάκλασης, μόνο ένα μικρό ποσοστό της δέσμης διεισδύει στο δείγμα, με αποτέλεσμα την ενίσχυση του σήματος φθορισμού σχεδόν κατά διπλάσιο σε σχέση με τις συμβατικές γεωμετρίες. Η γεωμετρία αυτή επιτρέπει επίσης, την τοποθέτηση του ανιχνευτή πολύ κοντά στο υπόστρωμα, γεγονός που αυξάνει σημαντικά τη στερεά γωνία ανίχνευσης και την αποδοτικότητα της μέτρησης. Η TXRF έχει βρει εφαρμογή σε ποικίλα είδη δειγμάτων μια εκ των οποίων είναι η χρήση της στην ανάλυση βιολογικών υλικών. (Skoog et al., 2021).

6.7 Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση

Η φασματοσκοπία φθορισμού ακτίνων Χ προσφέρει τη δυνατότητα τόσο ποιοτικής όσο και ποσοτικής ανάλυσης της στοιχειακής σύστασης. Η ποιοτική ανάλυση βασίζεται στην ταυτοποίηση των χαρακτηριστικών γραμμών που εμφανίζονται στο φάσμα. Κάθε στοιχείο του περιοδικού πίνακα διαθέτει μοναδικές ενεργειακές στάθμες, επομένως οι γραμμές K, L ή M που ανιχνεύονται αποτελούν «δακτυλικά αποτυπώματα» της παρουσίας του στο δείγμα. Η κατανομή και η θέση των κορυφών επαρκούν για τον ασφαλή προσδιορισμό ακόμη και στοιχείων που βρίσκονται σε πολύπλοκες μήτρες ή σε συνδυασμό με άλλα (Skoog et al., 2021).

Ανάμεσα στην καθαρά ποιοτική και την πλήρως ποσοτική ανάλυση, μπορεί να εφαρμοστεί μια ημιποσοτική προσέγγιση. Σε αυτήν, η συγκέντρωση ενός στοιχείου W_x εκτιμάται με βάση τη σχέση :

$$P_x = P_s * W_x$$

Όπου P_x είναι η σχετική ένταση της χαρακτηριστικής γραμμής που μετράτε στο δείγμα, P_s η ένταση που θα είχε το καθαρό στοιχείο υπό τις ίδιες συνθήκες και W_x η ποσότητα του στοιχείου στο δείγμα. Η μέθοδος αυτή παρέχει μια πρώτη εκτίμηση της συγκέντρωσης, αλλά στηρίζεται στην υπόθεση ότι η εκπομπή του στοιχείου δεν επηρεάζεται από την παρουσία άλλων, το οποίο στην πράξη δεν ισχύει πάντα (Skoog et al., 2021).

Η ποσοτική ανάλυση στηρίζεται στην ένταση των χαρακτηριστικών γραμμών, η οποία είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση του αντίστοιχου στοιχείου. Ωστόσο, η μέθοδος επηρεάζεται έντονα από φαινόμενα μήτρας, όπως η απορρόφηση και ενίσχυση της ακτινοβολίας από γειτονικά στοιχεία. Για το λόγο αυτό, η απλή συσχέτιση έντασης-συγκέντρωσης δεν είναι επαρκής και απαιτούνται διορθώσεις μέσω βαθμονόμησης. Οι πιο συνηθισμένες στρατηγικές είναι :

- **Βαθμονόμηση με εξωτερικά πρότυπα δείγματα :** χρησιμοποιούνται υλικά γνωστής σύστασης, παρόμοια με τα υπό μελέτη δείγματα, ώστε να κατασκευαστούν καμπύλες αναφοράς που συνδέουν την ένταση της ακτινοβολίας με την πραγματική συγκέντρωση (Skoog et al., 2021).
- **Χρήση εσωτερικών προτύπων :** σε αυτή την περίπτωση προστίθεται στο δείγμα μια γνωστή ποσότητα στοιχείου που δεν περιέχεται αρχικά, ώστε να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για τη διόρθωση των εντάσεων και την αποφυγή συστηματικών αποκλίσεων (Skoog et al., 2021).
- **Αραίωση προτύπων και δειγμάτων :** η αραίωση συνήθως με νερό ή οργανικούς διαλύτες μειώνει τα φαινόμενα μήτρας και εξασφαλίζει καλύτερη συγκρισιμότητα μεταξύ δείγματος και προτύπων.

Οι μέθοδοι αυτές, σε συνδυασμό με τις θεωρητικές διορθώσεις των θεμελιωδών παραμέτρων, καθιστούν δυνατή την εξαγωγή αξιόπιστων και ακριβών συγκεντρώσεων ακόμα και σε πολύπλοκα δείγματα (Skoog et al., 2021).

6.8 Ενδεικτικές εφαρμογές της φασματοσκοπίας φθορισμού ακτινών X

Αφού αναλύθηκαν οι αρχές λειτουργίας και η οργανολογία της φασματοσκοπίας φθορισμού ακτινών X, ακολουθεί η παρουσίαση της χρήσης της στη βιβλιογραφία. Η XRF έχει βρει σημαντικές εφαρμογές στον προσδιορισμό βαρέων μετάλλων σε

βιολογικά υγρά, προσφέροντας τη δυνατότητα ταχείας και πολυστοιχειακής ανάλυσης, με περιορισμένη προετοιμασία δείγματος. Στη συνέχεια παρατίθενται χαρακτηριστικές μελέτες που αναδεικνύουν τη συμβολή της τεχνικής στην ανάλυση ιχνοστοιχείων και την παρακολούθηση βιολογικών δειγμάτων στις τοξικολογικές και κλινικές έρευνες.

- I. Οι [Vaasjoki, R., & Rantanen, J., 1975] πραγματοποίησαν μια από τις πρώτες χρήσεις της τεχνικής XRF για τον προσδιορισμό τοξικών μετάλλων σε ολικό αίμα. Οι ερευνητές εξέτασαν τη δυνατότητα ανίχνευσης μόλυβδου, καδμίου, χρωμίου, μαγγανίου, νικελίου και βαναδίου. Η τεχνική ήταν αρκετά καλή για τον προσδιορισμό μαγγανίου, νικελίου και βαναδίου με τα όρια ανίχνευσης να είναι 0,021 μg/ml, 0,035 μg/ml και 0,017 μg/ml αντίστοιχα. Για τα υπόλοιπα στοιχεία η ευαισθησία ήταν πολύ χαμηλότερη οπότε τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν ανεπαρκή για πρακτική χρήση. Η επιστήμονες συγκρίνοντας την XRF με την AAS κατέληξαν ότι η πρώτη θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για βιολογικά δείγματα σε ορισμένα μέταλλα, αλλά σε γενικές γραμμές η περιορισμένη ευαισθησία την καθιστούσε λιγότερο κατάλληλη για την ευρεία εφαρμογή.
- II. Οι [Specht, A. J. et al., 2021] διερεύνησαν τη δυνατότητα χρήσης της συσκευής ED-XRF για τη μέτρηση της συγκέντρωσης μόλυβδου σε σταγόνες αίματος. Οι ερευνητές δημιούργησαν πρότυπα με γνωστές συγκεντρώσεις μόλυβδου σε διηθητικό χαρτί με διαφορετικούς όγκους και συγκεντρώσεις. Μέσω πολλαπλών μετρήσεων των προτύπων και της αξιολόγησης των κλίσεων της καμπύλης βαθμονόμησης υπολόγισαν το όριο ανίχνευσης του μόλυβδου. Το μέσο όριο ανίχνευσης ήταν 1,7 μg/dL, τιμή συγκρίσιμη με αυτή που επιτυγχάνεται με την τεχνική AAS. Η αναλυτική ευαισθησία της μεθόδου αξιολογήθηκε ως εξής : για μετρήσεις διάρκειας 30 λεπτών ήταν περίπου 2,9 μg/dL βάση γραμμής βαθμονόμησης, ενώ από τις εμπειρικές εκτιμήσεις το όριο αυτό μπορούσε να πέσει και στο 1,0 μg/dL. Επιπλέον, δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική επίδραση του όγκου της σταγόνας στην ακρίβεια των μετρήσεων, για όγκους μεταξύ 75-300 μL. Η επαναληψιμότητα της διαδικασίας επιβεβαιώθηκε επίσης με ένα συντελεστή διακύμανσης σε αποδεκτά επίπεδα (~0,16), δείχνοντας ο εργαστηριακός χειρισμός δεν πρόσθετε σημαντική παραμόρφωση στα αποτελέσματα. Η σημασία αυτής της εργασίας έγκειται στο γεγονός ότι η

- μέθοδος ED-XRF, εκτός του ότι είναι μη καταστρεπτική προσφέρει γρήγορη ανάλυση χωρίς πολλές απαιτήσεις και διαδικασίες προετοιμασίας.
- III. Οι [Grier et al., 2025] εξέτασαν τη χρήση της τεχνικής ED-XRF για τον μη καταστρεπτικό εντοπισμό βαρέων μετάλλων, όπως το αρσενικό, το κάδμιο, το μόλυβδο και τον υδράργυρο σε δείγματα ξηρών σταγόνων αίματος. Για την αξιολόγηση της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν τυποποιημένα δείγματα αίματος NIST 995C με 4 επίπεδα συγκεντρώσεων και όγκους μεταξύ 10 και 75 μL . Η ομάδα εξέτασε την επίδραση του όγκου του δείγματος στα αποτελέσματα και υπολόγισε τα όρια ανίχνευσης για κάθε μέταλλο. Τα όρια ανίχνευσης που εντοπίστηκαν ήταν τα εξής: As: 4,2 $\mu\text{g/L}$, Cd: 4,7 $\mu\text{g/L}$, Pb: 5,1 $\mu\text{g/L}$ και Hg: 4,1 $\mu\text{g/L}$. Οι μετρήσεις έδειξαν ότι όταν ο όγκος του δείγματος αίματος ήταν τουλάχιστον 20 μL , τα αποτελέσματα και τα επίπεδα των μετάλλων παρέμεναν σταθερά και δεν άλλαζαν σημαντικά.
- IV. Ο [Hussein, Z. A., 2023] είχε ως σκοπό να μελετήσει τη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων στο αίμα των εργαζομένων σε εργοστάσια τσιμέντου με την τεχνική XRF. Συγκεκριμένα, αναλύθηκαν δείγματα αίματος από 30 άτομα, 15 εργαζομένους και 15 άτομα ως ομάδα ελέγχου από την ίδια περιοχή. Τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων μόλυβδου, καδμίου και νικελίου έδειξαν ότι ήταν σημαντικά υψηλότερες στους εργαζομένους σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Οι μέσες τιμές για την πρώτη ομάδα ήταν $12,32 \pm 3,12$ ppm Pb, $3,57 \pm 0,95$ ppm Cd και $4,95 \pm 1,24$ ppm Ni, ενώ για την δεύτερη ομάδα ήταν $6,23 \pm 1,56$ ppm Pb, $1,96 \pm 0,12$ ppm Cd και $2,42 \pm 0,68$ ppm Ni. Οι διαφορές για τον μόλυβδο και το κάδμιο ήταν στατιστικά σημαντικές ($p < 0,05$) ενώ για το νικέλιο δεν ήταν.
- V. Οι [Pessanha, S., & Marguí, E., 2024] εφάρμοσαν την μέθοδο TXRF σε ούρα ερασιτεχνών δρομέων υπεραντοχής. Μετά τον αγώνα καταγράφηκε αξιοσημείωτη αύξηση στα επίπεδα βαρέων μετάλλων επιβεβαιώνοντας αφενός τη σχέση της έντονης άσκησης με την κινητοποίηση τοξικών στοιχείων και αφετέρου την αποτελεσματικότητα της TXRF. Η TXRF είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική τεχνική για την ταυτόχρονη μέτρηση πολλών στοιχείων σε μικρό όγκο βιολογικών δειγμάτων, καθιστώντας την χρήσιμη για βιοϊατρικές εφαρμογές παρακολούθησης έκθεσης.

- VI. Οι [Guimarães, D. Et al., 2011] εξέτασαν την απέκκριση μόλυβδου σε αρουραίους μέσω ούρων και κοπράνων, χρησιμοποιώντας διάφορες αναλυτικές μεθόδους. Οι ερευνητές συνέκριναν 2 ομάδες αρουραίων που αποτελούνταν από 20 ζώα που είχαν εκτεθεί σε μόλυβδο από την εμβρυϊκή περίοδο μέσω της διατροφής με διάλυμα οξικού μόλυβδου και από άλλα 20 που ήταν η ομάδα ελέγχου και δεν εκτέθηκαν. Δείγματα συλλέχθηκαν σε ηλικίες από 1 έως 11 μηνών. Ο μόλυβδος μετρήθηκε στα ούρα με TXRF και ETAAS, ενώ στα κόπρανα με ED-XRF. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντικά υψηλές συγκεντρώσεις μόλυβδου στους εκτεθειμένους αρουραίους τόσο στα ούρα όσο και στα κόπρανα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου όπου οι τιμές ήταν πολύ χαμηλές ή ακόμα και κάτω από τα όρια ανίχνευσης. Συνολικά η μελέτη τεκμηριώνει ότι και οι τρεις τεχνικές είναι κατάλληλες και αξιόπιστες για τη διερεύνηση της τοξικής έκθεσης σε μόλυβδο μέσω βιολογικών δειγμάτων.
- VII. Οι [Rodríguez-Saldaña, V. Et al., 2021] παρουσίασαν μια καινοτόμο μέθοδο εκτίμησης της έκθεσης σε μόλυβδο με χρήση TXRF σε δείγματα ξηρών σταγόνων αίματος. Στόχος της μελέτης ήταν να αξιολογηθεί η συγκεκριμένη μέθοδος ως μη επεμβατική και εύχρηστη εναλλακτική της καθιερωμένης ICP-MS, η οποία απαιτεί φλεβική αιμοληψία. Η μεθοδολογία εφαρμόστηκε σε 2 διαφορετικούς πληθυσμούς : 41 άτομα από ακαδημαϊκό περιβάλλον με χαμηλή πιθανότητα έκθεσης και 40 εργαζόμενους στην ανακύκλωση ηλεκτρονικών αποβλήτων, όπου η επαγγελματική έκθεση θεωρείται υψηλότερη. Η TXRF παρουσίασε υψηλή ευαισθησία, με όριο ανίχνευσης 0,28 $\mu\text{g/dL}$ και όριο ποσοτικοποίησης 0,69 $\mu\text{g/dL}$. Η ακρίβεια υπολογίστηκε περίπου στο 15% ενώ η ανάκτηση έφτασε το 111% επιβεβαιώνοντας την αξιοπιστία της τεχνικής. Η σύγκριση με ICP-MS σε δείγματα φλεβικού αίματος κατέδειξε πολύ καλή συμφωνία χωρίς σημαντικές αποκλίσεις. Η ανάλυση Bland-Altman έδειξε όρια συμφωνίας από 0,86 έως 0,91 $\mu\text{g/dL}$ (εύρος $\sim 1,77$ $\mu\text{g/dL}$), αποδεικνύοντας ότι οι 2 τεχνικές είναι ουσιαστικά ισοδύναμες.
- VIII. Οι [Lossow, K et al., 2023] διερεύνησαν τη αναλυτική ικανότητα των τεχνικών TXRF και ICP-MS/MS για την ανάλυση ιχνοστοιχείων σε δείγματα ορού και ήπατος. Οι συγγραφείς εστίασαν σε 4 βασικά ιχνοστοιχεία : σίδηρο, χαλκό, ψευδάργυρο και σελήνιο, τα οποία είναι

απαραίτητα για πολλές βιολογικές λειτουργίες όπως ενζυμικές αντιδράσεις και η ανοσολογική απόκριση. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι για τα δείγματα ορού οι 2 τεχνικές παρείχαν πολύ υψηλή συσχέτιση. Οι τιμές συσχέτισης (Spearman rS) ήταν 0,973 για το σίδηρο, 0,947 για τον χαλκό, 0,927 για τον ψευδάργυρο και 0,863 για το σελήνιο. Στα δείγματα ήπατος επίσης καταγράφηκαν υψηλές συσχετίσεις ιδιαίτερα για το σίδηρο ($rS=0,941$) και για το σελήνιο ($rS=0,930$), ενώ για τον χαλκό ($rS=0,746$) και τον ψευδάργυρο ($rS=0,670$) η συμφωνία ήταν μέτρια. Συνολικά, η μελέτη δείχνει ότι η TXRF μπορεί να χρησιμοποιηθεί αξιόπιστα για την ανάλυση ιχνοστοιχείων τόσο σε ορό όσο και σε ιστούς ήπατος προσφέροντας ένα απλούστερο και ταχύτερο εργαλείο σε σχέση με την ICP-MS/MS.

- IX. Οι [Jasna Jablan et al., 2021] μελέτησαν τη χρησιμότητα της τεχνικής TXRF για την ταυτόχρονη μέτρηση 3 βασικών ιχνοστοιχείων – σιδήρου, χαλκού και ψευδαργύρου- σε δείγματα ανθρώπινου ορού και πλάσματος. Η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα της μεθόδου ελέγχθηκαν με τη χρήση πιστοποιημένων υλικών αναφοράς (Clincheck Plasma Control και Seronorm Serum). Τα αποτελέσματα της τεχνικής συμφωνούσαν με τις αναμενόμενες τιμές, χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές έχοντας 95% επίπεδο εμπιστοσύνης. Στη συνέχεια η μέθοδος εφαρμόστηκε σε πραγματικά δείγματα από ασθενείς διαφορετικών ηλικιών, φύλων και διαγνώσεων, τα οποία είχαν ήδη αναλυθεί με ICP-OES και ICP-MS. Η σύγκριση έδειξε πολύ καλή συμφωνία μεταξύ TXRF και ICP τεχνικών, ιδιαίτερα σε δείγματα πλάσματος, τα οποία φάνηκαν να είναι ακόμη πιο κατάλληλα για TXRF ανάλυση.
- X. Οι [Mierzyńska, Z., et al., 2024] εξέτασαν την αξιοποίηση της ED-XRF για την ανάλυση πολλών στοιχείων σε δείγματα ανθρώπινων μαλλιών και νυχιών, σε σύγκριση με την κλασική και πιο ευαίσθητη τεχνική ICP-MS. Οι συγγραφείς υπογράμμισαν ότι η ICP-MS μπορεί να ανιχνεύσει περισσότερα από 30 στοιχεία με πολύ υψηλή ευαισθησία, αλλά απαιτεί υψηλό κόστος, εξειδικευμένο προσωπικό και χημική προετοιμασία (όξινη πέψη, μεγάλη ποσότητα δείγματος). Αντίθετα, η ED-XRF είναι φθηνότερη, γρηγορότερη, μη καταστροφική και πιο εύκολη στη χρήση, αν και λιγότερο ευαίσθητη με δυνατότητα ποσοτικοποίησης περίπου 16 στοιχείων. Η μέθοδος επικυρώθηκε με πιστοποιημένα δείγματα αναφοράς μαλλιών και

διαπιστώθηκε ότι για περίπου 15 στοιχεία υπήρχε καλή συμφωνία εντός των ορίων αβεβαιότητας, ενώ σε ορισμένα στοιχεία (π.χ. Br, Si, S, Se) η ED-XRF παρουσιάζεται καλύτερη ακρίβεια λόγω παρεμβολών που επηρεάζουν την ICP-MS. Τέλος η εφαρμογή της μεθόδου σε 260 δείγματα μαλλιών και νυχιών από κομμωτήρια στη Βαρσοβία αποκάλυψε μεγάλη διακύμανση σε στοιχεία όπως Ca, Cu, Zn, Sr και Pb. Εντοπίστηκαν επίσης ασυνήθιστα υψηλές συγκεντρώσεις άργυρου (Ag), πιθανόν από καλλυντικά προϊόντα δείχνοντας την ανάγκη παρακολούθησής τους.

- XI. Οι [Gruber, A et al., 2020] αξιολόγησαν την χρήση της τεχνικής TXRF για την ανίχνευση των μετάλλων : Fe, Cu, Zn και Mn σε βιολογικά δείγματα. Οι ερευνητές ανέπτυξαν μια απλή διαδικασία προετοιμασίας δειγμάτων που απαιτεί ελάχιστη ποσότητα υλικού, του μεγέθους μικρογραμμαρίων έως ελάχιστα χιλιοστόγραμμα ιστού ή κυττάρων. Η TXRF έδειξε εξαιρετική ακρίβεια και επαναληψιμότητα. Η επικύρωση με τη χρήση GF-AAS ως μεθόδου αναφοράς απέδειξε ανάκτηση σιδήρου περίπου 99,9%, χωρίς συστηματικά σφάλματα σε εύρος συγκεντρώσεων 1-1600 $\mu\text{g/L}$. Επίσης, μελέτη με το υλικό αναφοράς SRM 1577c (βόειο ήπαρ) κατέδειξε ότι οι τιμές για Fe, Cu, Zn και Mn ήταν εντός 92-106% των πιστοποιημένων τιμών. Τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου ήταν στην κλίμακα των πικογραμμαρίων, καταδεικνύοντας πολύ υψηλή ευαισθησία. Έτσι, οι επιστήμονες προτείνουν τη συγκεκριμένη μέθοδο ως ισχυρό εργαλείο για τη μελέτη μεταβολισμού του σιδήρου και άλλων ιχνοστοιχείων σε βιοϊατρικά δείγματα, ειδικά όταν η διαθέσιμη ποσότητα είναι περιορισμένη.
- XII. Οι [Adesina, K. E., et al., 2025] Ανέλυσαν δείγματα από πολλαπλά όργανα και επικεντρώθηκαν στα στοιχεία As, Cd, Cu, Mn και Zn. Η ICP-MS απαιτεί χρονοβόρα όξινη πέψη και είναι δαπανηρή, ενώ η XRF έχει το πλεονέκτημα της μη καταστροφικής, ταχύτερης και φθηνότερης ανάλυσης, χωρίς ιδιαίτερη προετοιμασία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των 2 μεθόδων. Ο συνολικός συντελεστής συσχέτισης Pearson ήταν $r=0,95$ ($p \leq 0,05$), αποδεικνύοντας πολύ καλή συμφωνία. Τα όρια ανίχνευσης του XRF ήταν εξαιρετικά χαμηλά, φθάνοντας τα 0,004 $\mu\text{g/g}$ για Cd, 0,040 $\mu\text{g/g}$ για Cu, 0,120 $\mu\text{g/g}$ για Zn, 0,25 $\mu\text{g/g}$ για As και 0,35 $\mu\text{g/g}$ για Mn με χρονομέτρησης μόλις 7,5 λεπτών ανά δείγμα. Η ανάλυση Bland-Altman έδειξε ότι οι 2 μέθοδοι είναι ουσιαστικά εναλλάξιμες για As, Cu και

Mn, ενώ υπήρχε μεγαλύτερη απόκλιση για Cd και Zn, λόγω χαμηλών συγκεντρώσεων ή παρεμβολών στο φάσμα.

- XIII. Οι [Gaeta, N. C., et al., 2022] εξέτασαν τη χρησιμότητα της τεχνικής WD-XRF για τον ποσοτικό προσδιορισμό ιχνοστοιχείων σε βιολογικά δείγματα βοοειδών. Στη μελέτη συλλέχθηκαν δείγματα ορού από 14 αγελάδες, στα οποία μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις Al, Cr, Co, Fe, Cu και As με τη μέθοδο WD-XRF. Για επικύρωση, τα ίδια δείγματα αναλύθηκαν με ICP-OES και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν μέσω ανάλυσης κύριων συνιστωσών (PCA). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι 2 μέθοδοι είναι στατιστικά ισοδύναμες για όλα τα στοιχεία με εξαίρεση τον Fe και το Al, όπου παρατηρήθηκαν μικρές αποκλίσεις, οι οποίες ωστόσο δεν αναιρούν τη χρησιμότητα της μεθόδου.

Συνοψίζοντας, παρουσιάστηκαν οι βασικές αρχές λειτουργίας της μεθόδου, η οργανολογία της και οι εφαρμογές της στη διεθνή βιβλιογραφία για τον προσδιορισμό μετάλλων σε βιολογικά υγρά. Η επισκόπηση αυτή αναδεικνύει τόσο τις δυνατότητες όσο και τους περιορισμούς της τεχνικής, προσφέροντας το απαραίτητο υπόβαθρο για την παρούσα εργασία. Στο επόμενο κεφάλαιο περιγράφεται το πειραματικό μέρος όπου αναλύονται τα υλικά, οι μέθοδοι και οι συνθήκες που εφαρμόστηκαν για την πραγματοποίηση της μελέτης.

7. Συμπεράσματα

Η παρούσα εργασία είχε ως στόχο τη μελέτη των σύγχρονων τεχνικών προσδιορισμού βαρέων μετάλλων σε βιολογικά δείγματα με εφαρμογή συγκεκριμένα σε ούρα. Στο πλαίσιο της διπλωματικής διατριβής πραγματοποιήθηκε θεωρητική ανασκόπηση των τεχνικών ατομικής απορρόφησης (AAS), φασματομετρίας μάζας με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-MS) και φασματοσκοπίας ατομικής εκπομπής με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-OES) και τον φθορισμός ακτινών X (XRF).

Η XRF, μια μέθοδος μη καταστρεπτική, γρήγορη και φιλική προς το χρήστη είναι ικανή να ανιχνεύσει μέταλλα σε βιολογικά υγρά όπως ούρα χωρίς κάποια χημική προεπεξεργασία. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η μέθοδος, αποδίδει ικανοποιητικά σε μέτριες και υψηλές συγκεντρώσεις αλλά παρουσιάζει μειωμένη ευαισθησία σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, γεγονός που περιορίζει τη χρήση της σε τοξικολογικά κρίσιμες καταστάσεις και λειτουργεί ως ένα καλό εργαλείο για προκαταρκτικούς προσδιορισμούς.

Η AAS που αποτελεί μια παραδοσιακή τεχνική για την τοξικολογία αφού προσδιορίζει μονοστοιχειακά μέταλλα με καλή ευαισθησία και χαμηλό κόστος, είναι περιορισμένη όταν πρόκειται για εφαρμογές που απαιτούν πολυπαραμετρική ανάλυση και χαμηλά όρια ανίχνευσης.

Τέλος, η ICP-MS, μέσω της θεωρητικής ανάλυσης, προκύπτει ως η πιο ευαίσθητη και αξιόπιστη μέθοδος ανίχνευσης και προσδιορισμού ιχνοστοιχείων αφού είναι δυνατός ο ταυτόχρονος πολυστοιχειακός έλεγχος σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Στα αρνητικά σημεία της υπάγεται το υψηλό κόστος του εξοπλισμού και η απαίτηση εξειδικευμένου προσωπικού. Η χρήση της στην τοξικολογία θεωρείται ιδανική αφού απαιτείται υψηλή ακρίβεια και επαναληψιμότητα.

Συνοψίζοντας, καμία από τις τεχνικές δεν είναι απόλυτα επαρκής για κάθε είδος εφαρμογής. Η επιλογή της καταλληλότερης μεθόδου πρέπει να γίνεται με γνώμονα τη φύση του δείγματος, τα επιθυμητά όρια ανίχνευσης, την αναλύμενη συγκέντρωση και τους διαθέσιμους πόρους. Με τη χρήση πολλαπλών μεθόδων προσφέρονται αξιόπιστα και επαληθευμένα αποτελέσματα όταν αυτές είναι διαθέσιμες.

Καταλήγοντας, η παρούσα εργασία επιβεβαιώνει τη σημαντικότητα των φασματοσκοπικών τεχνικών για τον προσδιορισμό βαρέων μετάλλων, ιδιαίτερα όταν

πρόκειται για τοξικολογικές αναλύσεις με εφαρμογές στον τομέα της υγείας όπου η ακρίβεια και η αξιοπιστία τους μπορούν να καθορίσουν την έγκαιρη διάγνωση ή τα αίτια θανάτων.

8. Βιβλιογραφία

Όλη η βιβλιογραφία είναι καταγεγραμμένη με το σύστημα APA.

1. Klaassen, C. D., Watkins III, J. B. (2015). *Casarett and Doull's Essentials of Toxicology* (3rd ed.). McGraw-Hill Education.
2. Wikipedia. (2022, August 13). The dose makes the poison. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/The_dose_makes_the_poison
3. Iwegbue, C. M. A., Ojelum, A. L., & Bassey, F. I. (2014). A survey of metal profiles in some traditional alcoholic beverages in Nigeria. *Food Science & Nutrition*, 2(6), 724–733. <https://doi.org/10.1002/fsn3.163>
4. B Samaila, & Kalgo, Z. M. (2024). Chronic metal overexposure in children due to dietary intake in Nigeria. *Journal of Pediatrics & Neonatal Care*, 14(2), 160–164. <https://doi.org/10.15406/jpnc.2024.14.00560>
5. Hu, Y., Wang, C., Song, Z., Chen, M., Ding, L., Liang, X., Bi, X., Li, Z., Li, P., & Zheng, W. (2021). Heavy Metal in Rice and Vegetable and Human Exposure near a Large Pb/Zn Smelter in Central China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(23), 12631–12631. <https://doi.org/10.3390/ijerph182312631>
6. Tariba, B. (2011). Metals in Wine—Impact on Wine Quality and Health Outcomes. *Biological Trace Element Research*, 144(1-3), 143–156. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-9052-7>
7. Nkwunonwo, U. C., Odika, P. O., & Onyia, N. I. (2020). A Review of the Health Implications of Heavy Metals in Food Chain in Nigeria. *The Scientific World Journal*, 2020, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2020/6594109>
8. Murphy, T., Lim, S., Kim, S., Irvine, K., Chaiwat, W., & Wilson, K. (2016). Metal Contamination in Low-Cost Jewelry and Toys in Cambodia. *Journal of Health and Pollution*, 6(11), 47–57. <https://doi.org/10.5696/2156-9614-6-11.47>
9. Horton, L. A., Mortensen, M. E., Yulia Iossifova, Wald, M. M., & Burgess, P. A. (2013). What Do We Know of Childhood Exposures to Metals (Arsenic, Cadmium, Lead, and Mercury) in Emerging Market Countries? *International Journal of Pediatrics*, 2013, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2013/872596>
10. Buhari Samaila, Zayyanu Muhammad Kalgo, & Buhari Maidamma. (2023). Exposure to heavy metals in oil and gas wastes: A systematic review on health

- hazards assessment and mitigation in Nigeria. *Advanced Research in Medical and Health Sciences*, 1(1), 22–32. <https://doi.org/10.57040/armhs.v1i1.370>
11. Cleveland Clinic. (2022, January 18). Lead Poisoning: Causes, Symptoms, Testing & Prevention. Cleveland Clinic. <https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/11312-lead-poisoning>
 12. World Health Organization. (2024, September 27). Lead Poisoning and Health. Who.int; World Health Organization: WHO. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>
 13. Jasna Markovac, & Goldstein, G. R. (1988). Picomolar concentrations of lead stimulate brain protein kinase C. *Nature*, 334(6177), 71–73. <https://doi.org/10.1038/334071a0>
 14. Abelsohn, A. R., & Sanborn, M. (2010). Lead and children: Clinical management for family physicians. *Canadian Family Physician*, 56(6), 531. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2902938/>
 15. Negi, S., Bala, L., Shukla, S., & Chopra, D. (2022). Tattoo inks are toxicological risks to human health: A systematic review of their ingredients, fate inside skin, toxicity due to polycyclic aromatic hydrocarbons, primary aromatic amines, metals, and overview of regulatory frameworks. *Toxicology and Industrial Health*, 38(7), 417–434. <https://doi.org/10.1177/07482337221100870>
 16. Chen, C., Zhang, S., Liu, Z., Tian, Y., & Sun, Q. (2015). Cadmium toxicity induces ER stress and apoptosis via impairing energy homoeostasis in cardiomyocytes. *Bioscience Reports*, 35(3). <https://doi.org/10.1042/bsr20140170>
 17. Farhan, A., & Jasim, S. T. (2020). Cadmium Toxicity and some Target Organs: A Review. *Al-Anbar Journal of Veterinary Sciences*, 13(2). <https://doi.org/10.37940/ajvs.2020.13.2.2>
 18. Das, S. C., & Al-Naemi, H. A. (2019). Cadmium Toxicity: Oxidative Stress, Inflammation and Tissue Injury. *Occupational Diseases and Environmental Medicine*, 07(04), 144–163. <https://doi.org/10.4236/odem.2019.74012>
 19. Maretta, M., & Maretová, E. (2022). Toxic Effects of Cadmium on the Female Reproductive Organs a Review. *Folia Veterinaria*, 66(4), 56–66. <https://doi.org/10.2478/fv-2022-0038>

20. Bernhoft, R. A. (2011). Mercury Toxicity and Treatment: A Review of the Literature. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012(460508), 1–10. <https://doi.org/10.1155/2012/460508>
21. Fernandes Azevedo, B., Barros Furieri, L., Peçanha, F. M., Wiggers, G. A., Frizera Vassallo, P., Ronacher Simões, M., Fiorim, J., Rossi de Batista, P., Fioresi, M., Rossoni, L., Stefanon, I., Alonso, M. J., Salaices, M., & Valentim Vassallo, D. (2012). Toxic Effects of Mercury on the Cardiovascular and Central Nervous Systems. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012(949048), 1–11.
22. Ratnaïke, R. N. (2003). Acute and Chronic Arsenic Toxicity. *Postgraduate Medical Journal*, 79(933), 391–396. <https://doi.org/10.1136/pmj.79.933.391>
23. Kaur, T., Singh, A., & Goel, R. (2011). Mechanisms pertaining to arsenic toxicity. *Toxicology International*, 18(2), 87. <https://doi.org/10.4103/0971-6580.84258>
24. Reif, B. M., & Murray, B. P. (2024). Chromium Toxicity. PubMed; StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK599502/>
25. International Agency for Research on Cancer. (2023, December 1). Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–128 – IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans. <https://monographs.iarc.who.int/agents-classified-by-the-iarc/>
26. GOV.UK. (2025, January 31). Nickel: toxicological overview. GOV.UK. <https://www.gov.uk/government/publications/nickel-properties-incident-management-and-toxicology/nickel-toxicological-overviewA>
27. Cunningham, R. (2021). Nickel toxicity - WikEM. Wikem.org. https://wikem.org/wiki/Nickel_toxicity
28. Kuper, C. F., Woutersen, R. A., Slootweg, P. J., & Feron, V. J. (2000). Carcinogenic response of the nasal cavity to inhaled chemical mixtures.

- Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 380(1-2), 19–26. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(97\)00123-1](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(97)00123-1)
29. Nickel Institute. (2018). Fact Sheet 2: Nickel & Nickel Compounds Carcinogenicity | Nickel Institute. Nickelinstitute.org. <https://nickelinstitute.org/en/science/human-health-fact-sheets/fact-sheet-2-nickel-nickel-compounds-carcinogenicity/>
30. Environmental Protection Agency (EPA). (2000). Nickel Compounds Hazard Summary. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-09/documents/nickle-compounds.pdf>
31. Kemnic, T. R., & Coleman, M. (2019, February 14). Thallium Toxicity. Nih.gov; Stat Pearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513240/>
32. Liu, H., & Liao, G. (2021). Long-term misdiagnosis and neurologic outcomes of thallium poisoning: A case report and literature review. *Brain and Behavior*, 11(3). <https://doi.org/10.1002/brb3.2032>
33. Jimenez, O., Cáceres, H., Gimenez, L., Soto, L., Montenegro, M., & Rueda, J. A. A. (2022). Thallium poisoning: a case report. *Journal of Yeungnam Medical Science*, 40(3). <https://doi.org/10.12701/jyms.2022.00647>
34. Zajac, L., Johnson, S. A., & Hauptman, M. (2020). Doc, can you test me for “toxic metals”? Challenges of testing for toxicants in patients with environmental concerns. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, 100762. <https://doi.org/10.1016/j.cppeds.2020.100762>
35. Murphy, M., Srivastava, R., & Deans, K. (2023). *Clinical Biochemistry*. Elsevier Health Sciences.

36. Wani, A. L., Ara, A., & Usmani, J. A. (2015). Lead toxicity: a review. *Interdisciplinary Toxicology*, 8(2), 55–64. <https://doi.org/10.1515/intox-2015-0009>
37. Barlow, N., & Bradberry, S. M. (2022). Investigation and monitoring of heavy metal poisoning. 76(2), 82–97. <https://doi.org/10.1136/jcp-2021-207793>
38. Rodushkin, I., & Ödman, F. (2001). Assessment of the contamination from devices used for sampling and storage of whole blood and serum for element analysis. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 15(1), 40–45. [https://doi.org/10.1016/s0946-672x\(01\)80025-0](https://doi.org/10.1016/s0946-672x(01)80025-0)
39. Boeynaems, J.-M., Leener, A. D., Dessars, B., Villa-Lobos, H. R., Aubry, J.-C., Cotton, F., & Thiry, P. (2004). Evaluation of a new generation of plastic evacuated blood-collection tubes in clinical chemistry, therapeutic drug monitoring, hormone and trace metal analysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 42(1). <https://doi.org/10.1515/cclm.2004.013>
40. Takayama, Y., Masuzaki, Y., Mizutani, F., Iwata, T., Maeda, E., Tsukada, M., Nomura, K., Ito, Y., Chisaki, Y., & Murata, K. (2021). Associations between blood arsenic and urinary arsenic species concentrations as an exposure characterization tool. *The Science of the Total Environment*, 750, 141517. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141517>
41. Jelle Verdonck, Duca, R.-C., Galea, K. S., Ivo Iavicoli, Katrien Poels, Zehra Nur Töreyn, Jeroen Vanoirbeek, & Lode Godderis. (2021). Systematic review of biomonitoring data on occupational exposure to hexavalent chromium. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 236, 113799–113799. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2021.113799>

42. Genchi, G., Sinicropi, M. S., Lauria, G., Carocci, A., & Catalano, A. (2020). The effects of cadmium toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(11), 3782. <https://doi.org/10.3390/ijerph17113782>
43. Wang, Y.-X., Feng, W., Zeng, Q., Sun, Y., Wang, P., You, L., Yang, P., Huang, Z., Yu, S.-L., & Lu, W.-Q. (2016). Variability of Metal Levels in Spot, First Morning, and 24-Hour Urine Samples over a 3-Month Period in Healthy Adult Chinese Men. *Environmental Health Perspectives*, 124(4), 468–476. <https://doi.org/10.1289/ehp.1409551>
44. Ganong, W. F., Barrett, K. E., & McGraw-Hill Education. (2016). *Ganong's review of medical physiology*. McGraw Hill Education, Cop.
45. Nguyen, T. A., Chen, R. H., Hawkins, B. A., Hibbs, D. E., Kim, H. Y., Wheate, N. J., Groundwater, P. W., Stocker, S. L., & Alffenaar, J.-W. C. (2024). Can we Predict Drug Excretion into Saliva? A Systematic Review and Analysis of Physicochemical Properties. *Clinical Pharmacokinetics*. <https://doi.org/10.1007/s40262-024-01398-9>
46. Pragst, F., & Balikova, M. A. (2006). State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clinica Chimica Acta*, 370(1-2), 17–49. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.02.019>
47. Kintz, P. (2017). Hair Analysis in Forensic Toxicology: An Updated Review with a Special Focus on Pitfalls. *Current Pharmaceutical Design*, 23(36), 5480–5486. <https://www.eurekaselect.com/article/86076>
48. Office of Chief Medical Examiner of New York. (2023). *FORENSIC TOXICOLOGY LABORATORY OFFICE OF CHIEF MEDICAL EXAMINER CITY OF NEW YORK ANALYTICAL TESTING GUIDELINES*

(*POSTMORTEM FORENSIC TOXICOLOGY*).

<https://www.nyc.gov/assets/ocme/downloads/pdf/MgmtAdmin%20-%20D%20-%20Analytical%20Testing%20Guidelines%20PM.pdf>

49. Argo, A., Zerbo, S., Buscemi, R., Trignano, C., Bertol, E., Albano, G. D., & Vaiano, F. (2022). A Forensic Diagnostic Algorithm for Drug-Related Deaths: A Case Series. *Toxics*, *10*(4), 152. <https://doi.org/10.3390/toxics10040152>
50. Stimpfl, T., Muller, K., Gergov, M., Lebeau, M., Poletini, A., Sporkert, F., & Weinmann, W. (2021). *TIAFT -The International Association of Forensic Toxicologists*. <https://www.tiaft.org/data/uploads/documents/tiaft-sta-recommendations-on-sample-preparation.pdf>
51. Ι. Παπουτσή, (2020) *Διαλέξεις Τοξικολογικής Ανάλυσης* (διαφάνειες), ΕΚΠΑ – Εργαστήριο Ιατροδικαστικής. <https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/CHEM233/%CE%92%CE%99%CE%9F%CE%91%CE%9D%CE%91%CE%9B%CE%A5%CE%A4%CE%99%CE%9A%CE%95%CE%A3%20%CE%A4%CE%95%CE%A7%CE%9D%CE%99%CE%9A%CE%95%CE%A3/%CE%94%CE%99%CE%91%CE%9B%CE%95%CE%9E%CE%95%CE%99%CE%A3%20%CE%A0%CE%91%CE%A0%CE%9F%CE%A5%CE%A4%CE%A3%CE%97/%CE%91%CE%BE%CE%B9%CE%BF%CE%BB%CF%8C%CE%B3%CE%B7%CF%83%CE%B7%20%CE%B1%CF%80%CE%BF%CF%84%CE%B5%CE%BB%CE%B5%CF%83%CE%BC%CE%AC%CF%84%CF%89%CE%BD%20%CF%83%CF%84%CE%B7%CE%BD%20%CF%84%CE%BF%CE%BE%CE%B9%CE%BA%CE%BF%CE%BB%CE%BF%CE%B3%CE%B9%CE%BA%CE%AE%20%CE%B1%CE%BD%CE%AC%CE%BB%CF%85%CF%83%CE%B7.pdf#:~:text=%CE%9F%CE%BB%CE%B9%CE%BA%CF%8C%2>

[0%CE%B1%CE%AF%CE%BC%CE%B1%20%CE%AE%20%CF%80%CE%BB%CE%AC%CF%83%CE%BC%CE%B1%20%EF%81%B1,%CF%83%CF%85%CF%83%CF%87%CE%AD%CF%84%CE%B9%CF%83%CE%B7%20%CE%BC%CE%B5%20%CE%B4%CE%B7%CE%BB%CE%B7%CF%84%CE%B7%CF%81%CE%AF%CE%B1%CF%83%CE%B7%20%CE%AE%20%CE%B8%CE%AC%CE%BD%CE%B1%CF%84%CE%BF](#)

52. Latimer, R., MacLeod, H., Dellefave-Castillo, L., Macaya, D., & Hart, T. R. (2022). Postmortem Genetic Testing Is an Increasingly Utilized Tool in Death Investigation. *Academic Forensic Pathology*, 12(4), 129–139. <https://doi.org/10.1177/19253621221124800>
53. Chen, R., Hao, Z., Ye, J., Zhao, X., Hu, S., Luo, J., Li, J., Wu, H., Liang, X., Shen, C., Deng, M., Zhang, W., Zhu, Z., Qin, Y., Hu, G., Zhang, L., Cao, F., Liu, Y., Liu, R., & Sun, Q. (2025). Decoding post-mortem infection dynamics of SARS-CoV-2, IAV and RSV: New insights for public health and emerging infectious diseases management. *Journal of Infection*, 90(6), 106489. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2025.106489>
54. Söderberg, C., Ilia Rodushkin, Johansson, A., & Kugelberg, F. C. (2023). Postmortem reference concentrations of 68 elements in blood and urine. *International Journal of Legal Medicine*, 137(3), 655–669. <https://doi.org/10.1007/s00414-023-02952-z>
55. CDC. (2024, May 23). About Childhood Lead Poisoning Prevention. Childhood Lead Poisoning Prevention. <https://www.cdc.gov/lead-prevention/about/index.html>
56. WHO. (2023, August 16). *Exposure to lead: a major public health concern, 3rd edition*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240078130>

57. ATSDR. (2020). Toxicological profile for lead. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>
58. Kosnett, M. J., Wedeen, R. P., Rothenberg, S. J., Hipkins, K. L., Materna, B. L., Schwartz, B. S., Hu, H., & Woolf, A. (2007). Recommendations for Medical Management of Adult Lead Exposure. *Environmental Health Perspectives*, 115(3), 463–471. <https://doi.org/10.1289/ehp.9784>
59. Δαΐκου, Α., Δοντάς, Σ., & Χημικός, Δ. (2015). ΟΡΙΑΚΕΣ ΤΙΜΕΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ & ΔΕΙΚΤΕΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΕ ΧΗΜΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ 2015 (Ελληνική νομοθεσία, ACGIH, DFG). https://www.elinyae.gr/sites/default/files/2019-07/Oriakes_2015.1442573912359.pdf
60. Weaver, V. M., Nam Soo Kim, Jaar, B. G., Schwartz, B. S., Parsons, P. J., Steuerwald, A. J., Todd, A. C., Simon, D., & Byung Seok Lee. (2011). Associations of low-level urine cadmium with kidney function in lead workers. *Occupational and Environmental Medicine*, 68(4), 250–256. <https://doi.org/10.1136/oem.2010.056077>
61. Wikipedia Contributors. (2025, July 11). *Cadmium poisoning*. Wikipedia; Wikimedia Foundation. https://en.wikipedia.org/wiki/Cadmium_poisoning#cite_note-24
62. CDC. (2012, June). Evaluating mercury exposure: information for health care providers. Cdc.gov. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/57436>
63. U.S. Department of Health and Human Services. (2004). *Health Consultation*. <https://www.atsdr.cdc.gov/hac/pha/bloodurinetestresults051104-fl/bloodurinetestresultshc051104.pdf>

64. Skoczynska, A., Skoczynska, M., Turczyn, B., Wojakowska, A., Gruszczynski, L., & Scieszka, M. (2021). Exposure to Arsenic in the Air and 15-F2t-Isoprostane in Urine in a Sub-population of Inhabitants of a Copper Smelter Region. *Exposure and Health*, 13(3), 403–418. <https://doi.org/10.1007/s12403-021-00392-x>
65. IOWA Health & Human Services. (2023, August 21). *Arsenic Poisoning*. Health & Human Services. <https://hhs.iowa.gov/health-prevention/providers-professionals/center-acute-disease-epidemiology/epi-manual/environmental-disease/arsenic-poisoning>
66. ATSDR. (2023, May 25). *Chromium (Cr) Toxicity: Clinical Assessment - Laboratory Tests | Environmental Medicine | ATSDR*. Cdc.gov. https://archive.cdc.gov/www_atsdr_cdc_gov/csem/chromium/laboratory_tests.html
67. ATSDR. (2012). *TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CHROMIUM*. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp7.pdf>
68. Health Canada. (2010, August 16). *Report on Human Biomonitoring of Environmental Chemicals in Canada*. Aem. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/environmental-workplace-health/reports-publications/environmental-contaminants/8-results-chemical-group-report-human-biomonitoring-environmental-chemicals-canada-health-canada-2010.html>
69. Wilbur, S., Abadin, H., Fay, M., Yu, D., Tencza, B., Ingerman, L., Klotzbach, J., & James, S. (2012, September 1). *POTENTIAL FOR HUMAN EXPOSURE*. Www.ncbi.nlm.nih.gov; Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK158852/>

70. ATSDR. (2013). *PUBLIC HEALTH STATEMENT Chromium*.
<https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp7-c1-b.pdf>
71. Ceballos, D., West, C., Methner, C.-S., & Gong, W. (2017). *Evaluation of Chromium, Hexavalent Chromium, Cadmium, and Isocyanate Exposures in an Aircraft Refinishing Plant*. <https://www.cdc.gov/niosh/hhe/reports/pdfs/2013-0011-3278.pdf>
72. Gates, A., Jakubowski, J. A., & Regina, A. C. (2023). *Nickel Toxicology*. PubMed; StatPearls Publishing.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK592400/>
73. MAYO CLINIC LABORATORIES. (2023). *Nickel, Serum - Mayo Clinic Laboratories / Neurology Catalog*. Testcatalog.org.
<https://neurology.testcatalog.org/show/NIS>
74. Schulz, C., Wilhelm, M., Heudorf, U., & Kolossa-Gehring, M. (2011). Update of the reference and HBM values derived by the German Human Biomonitoring Commission. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 215(1), 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.06.007>
75. Mehrpour, O. (2025). *Thallium Poisoning Symptoms: Critical Warnin*. Medical Toxicology; medicaltoxic.com.
<https://medicaltoxic.com/blogs/thallium-poisoning-symptoms-critical-warning-signs-medical>
76. Arup Laboratories. (2025). *Thallium, Whole Blood | ARUP Laboratories Test Directory*. Aruplab.com. <https://ltd.aruplab.com/Tests/Pub/0099610>
77. Government of Canada. (2024). *Assessment - Thallium and its compounds - Canada.ca*. Canada.ca. <https://www.canada.ca/en/environment-climate->

[change/services/evaluating-existing-substances/assessment-thallium-compounds.html](https://www.rupahealth.com/post/thallium-poisoning-diagnosis-treatment-and-prevention)

78. Coleman, E. (2025, February 24). *Thallium Poisoning: Diagnosis, Treatment and Prevention*. Rupa Health. <https://www.rupahealth.com/post/thallium-poisoning-diagnosis-treatment-and-prevention>
79. Skoog, Haller, & Crouch. (2018). Αρχές ενόργανης ανάλυσης (7η έκδοση). Κωσταράκη Εκδόσεις.
80. Tudosie, M. S., Caragea, G., Popescu, D. M., Avram, O., Serban, D., Smarandache, C. G., Tudor, C., Badiu, C. D., Socea, B., Sabau, A. D., Comandasu, M., Spataru, R., Costea, D. O., Tanasescu, C., & Dascalu, A. M. (2021). Optimization of a GF-AAS method for lead testing in blood and urine: A useful tool in acute abdominal pain management in emergency. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 22(3), 985. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10417>
81. Adokwe, J. B., Phisit Pouyfung, Saruda Kuraeiad, Paleeratana Wongrith, Puchong Inchai, Supabhorn Yimthiang, Soisungwan Satarug, & Tanaporn Khamphaya. (2025). Concurrent Lead and Cadmium Exposure Among Diabetics: A Case-Control Study of Socio-Demographic and Consumption Behaviors. *Nutrients*, 17(4), 710–710. <https://doi.org/10.3390/nu17040710>
82. Panghal, A., Sathua, K. B., & Flora, S. J. S. (2020). Gallic acid and MiADMSA reversed arsenic induced oxidative/nitrosative damage in rat red blood cells. *Heliyon*, 6(2), e03431. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03431>
83. Miller-Ihli, N. J. (1989). Graphite furnace atomic absorption spectrometry for the analysis of biological materials. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 44(12), 1221–1227. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(89\)80120-x](https://doi.org/10.1016/0584-8547(89)80120-x)

84. Abdullahi, I. L., & Sani, A. (2020). Welding fumes composition and their effects on blood heavy metals in albino rats. *Toxicology Reports*, 7, 1495–1501. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.10.021>
85. Vesterberg, O., & Wrangskogh, K. (1978). Determination of cadmium in urine by graphite-furnace atomic absorption spectroscopy. *Clinical Chemistry*, 24(4), 681–685. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/639275/>
86. Horng, C.-J., & Lin, S.-R. (1998). Determination of urinary trace elements (As, Hg, Zn, Pb, Se) in patients with Blackfoot disease. *Talanta*, 45(1), 75–83. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(97\)00111-2](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(97)00111-2)
87. Dang, T. (1999). Determination of arsenic in urine by atomic absorption spectrophotometry for biological monitoring of occupational exposure to arsenic. *Toxicology Letters*, 108(2-3), 179–183. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(99\)00087-9](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(99)00087-9)
88. Lee, J.-Y., Kim, J.-H., Choi, D.-W., Lee, D.-W., Park, J.-H., Yoon, H.-J., Pyo, H.-S., Kwon, H.-J., & Park, K.-S. (2012). The association of heavy metal of blood and serum in the Alzheimer's diseases. *Toxicological Research*, 28(2), 93–98. <https://doi.org/10.5487/TR.2012.28.2.093>
89. Guyot, E., Yevgeniya Solovyova, Tomkiewicz, C., Leblanc, A., Pierre, S., Souleiman El Balkhi, Marie-Aude Le Frère-Belda, Fabrice Lecuru, Joël Poupon, Barouki, R., Aggerbeck, M., & Coumoul, X. (2015). Determination of Heavy Metal Concentrations in Normal and Pathological Human Endometrial Biopsies and In Vitro Regulation of Gene Expression by Metals in the Ishikawa and Hec-1b Endometrial Cell Line. *PLoS ONE*, 10(11), e0142590–e0142590. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142590>

90. Henríquez-Hernández, L. A., Boada, L. D., Carranza, C., Pérez-Arellano, J. L., González-Antuña, A., Camacho, M., Almeida-González, M., Zumbado, M., & Luzardo, O. P. (2017). Blood levels of toxic metals and rare earth elements commonly found in e-waste may exert subtle effects on hemoglobin concentration in sub-Saharan immigrants. *Environment International*, *109*, 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.08.023>
91. Orr, S. E., Barnes, M. C., George, H. S., Joshee, L., Jeon, B., Scircle, A., Black, O., Cizdziel, J. V., Smith, B. E., & Bridges, C. C. (2018). Exposure to mixtures of mercury, cadmium, lead, and arsenic alters the disposition of single metals in tissues of Wistar rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, *81*(24), 1246–1256. <https://doi.org/10.1080/15287394.2018.1551164>
92. Ash, R. D., & He, M. (2018). Details of a thallium poisoning case revealed by single hair analysis using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Forensic Science International*, *292*, 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.10.002>
93. Wikipedia Contributors. (2019, March 10). *Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy*. Wikipedia; Wikimedia Foundation. https://en.wikipedia.org/wiki/Inductively_coupled_plasma_atomic_emission_spectroscopy
94. Lech, T. (2014). ICP OES and CV AAS in determination of mercury in an unusual fatal case of long-term exposure to elemental mercury in a teenager. *Forensic Science International*, *237*, e1–e5. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.02.015>
95. Fallah, A. A., Saei-Dehkordi, S. S., Nematollahi, A., & Jafari, T. (2011). Comparative study of heavy metal and trace element accumulation in edible

- tissues of farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using ICP-OES technique. *Microchemical Journal*, 98(2), 275–279.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.02.007>
96. Alrobaian, M., & Arida, H. (2019). Assessment of Heavy and Toxic Metals in the Blood and Hair of Saudi Arabia Smokers Using Modern Analytical Techniques. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2019, 1–8.
<https://doi.org/10.1155/2019/7125210>
97. Ψαρρακός, Κ. (2012). *ΕΠΙΤΟΜΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΦΥΣΙΚΗ*. University Studio Press.
98. Satyendra. (2022). *X-Ray Fluorescence (XRF) Spectrometer – IspatGuru*. Ispatguru.com. <https://www.ispatguru.com/x-ray-fluorescence-xrf-spectrometer/>
99. Vaasjoki, R., & Rantanen, J. (1975). Determination of toxic metals in blood by x-ray fluorescence spectrometry. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 1(3), 184–192. <https://doi.org/10.5271/sjweh.2847>
100. Specht, A. J., Obrycki, J. F., Mazumdar, M., & Weisskopf, M. G. (2021). Feasibility of Lead Exposure Assessment in Blood Spots using Energy-Dispersive X-ray Fluorescence. *Environmental Science & Technology*, 55(8), 5050–5055. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c06622>
101. Grier, T., Obrycki, J. F., Weisskopf, M., & Specht, A. J. (2025). Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Provides New Option for Measuring Arsenic, Cadmium, Lead, and Mercury in Dried Blood Spots. *SSRN*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.5156927>
102. Hussein, Z. A. (2023). Assessment of heavy radionuclides in blood samples for workers of a cement factory by X-ray fluorescence. *Journal of*

- Radiation Research and Applied Sciences*, 16(2), 100553.
<https://doi.org/10.1016/j.jrras.2023.100553>
103. Pessanha, S., & Marguá, E. (2024). Potentially Toxic Elements Determination by X-Ray Spectrometry. *X-Ray Spectrometry*.
<https://doi.org/10.1002/xrs.3461>
104. Guimarães, D., Carvalho, M. L., Becker, M., Bohlen, A., Geraldes, V., Rocha, I., & Santos, J. P. (2011). Lead concentration in feces and urine of exposed rats by x-ray fluorescence and electrothermal atomic absorption spectrometry. *X-Ray Spectrometry*, 41(2), 80–86.
<https://doi.org/10.1002/xrs.2361>
105. Rodríguez-Saldaña, V., Fobil, J., & Basu, N. (2021). Lead (Pb) exposure assessment in dried blood spots using Total Reflection X-Ray Fluorescence (TXRF). *Environmental Research*, 198, 110444.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110444>
106. Lossow, K., Wiebke Schlörmann, Tuchtenhagen, M., Schwarz, M., Schwerdtle, T., & Kipp, A. P. (2023). Measurement of trace elements in murine liver tissue samples: Comparison between ICP-MS/MS and TXRF. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 78, 127167–127167.
<https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127167>
107. Jasna Jablan, Emili Besalú, Marko Žarak, Jerka Dumić, & Marguá, E. (2021). Analytical potential of total reflection X-ray fluorescence spectrometry for simultaneous determination of iron, copper and zinc in human blood serum and plasma. 233, 122553–122553.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122553>

108. Mierzyńska, Z., Niemirska, M., Kacper Zgonina, Tomasz Bieńkowski, Krzysztof Hryniów, Paweł Świder, & Pawlak, K. (2024). Multi-Elemental Analysis of Hair and Fingernails Using Energy-Dispersive X-ray Fluorescence (ED XRF) Method Supported by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP MS). *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 29(4), 773–773. <https://doi.org/10.3390/molecules29040773>
109. Gruber, A., Riccarda Müller, Wagner, A., Colucci, S., Maja Vujić Spasić, & Leopold, K. (2020). Total reflection X-ray fluorescence spectrometry for trace determination of iron and some additional elements in biological samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry/Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 412(24), 6419–6429. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02614-8>
110. Adesina, K. E., Parducci, S. A., Brain, J. D., Molina, R. M., Weisskopf, M., & Specht, A. J. (2025). Comparison between inductively coupled plasma-mass spectrometry and benchtop X-ray fluorescence performance for trace elemental exposure in rat tissues. *Journal of Trace Elements and Minerals*, 12, 100229. <https://doi.org/10.1016/j.jtemin.2025.100229>
111. Gaeta, N. C., Ubriaco, D., Augusto, M., Carvalho, J. S., Patrícia Cedraz, Ulrich, J. C., Jovane, L., Gregory, L., & Scapin, M. A. (2022). Quantitative analysis of minor and trace elements in blood serum of dairy cattle (*Bos taurus*) by WDXRF. *Brazilian Journal of Radiation Sciences*, 10(3B). <https://doi.org/10.15392/2319-0612.2022.191>