

method in detection of early skeletal and bones changes from vibro-occupational character. Sci exploration of skeleton of hands and elbows in occupationally exposed tunnel workers can be classified as important but jet not enough explored methods because its dynamics enables solid, early information of osteogenesis as well as general and local methabolizm. The Sci advantages as diagnostic method is in minimal radiation dose and reproducibility despite its specificity. It is necessary that the verification of skeletal changes for HAVS in occupationally exposed workers is conducted in the frame of complex of diagnostic criteria (history, clinical, radiological, biochemical) with its obligatory correlation to ecological parameters in work environment, technical characteristics of hand vibratory machines and physical characteristics of vibrations they produce.

## ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА НЕКОИ ТЕШКИ МЕТАЛИ ВО СЕРУМ И УРИНА СО ЕЛЕКТРОТЕРМИЧКА АТОМСКА АПСОРПЦИОНА СПЕКТРОМЕТРИЈА

*Трајче Стафилов<sup>1</sup>, Надица Тодоровска<sup>2</sup>, Ирина Карацова<sup>3</sup> и Соња Арпаџан<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Институт за хемија, Природно-математички факултет, Универзитет “Св. Кирил и Методиј”, Скопје, Македонија;

<sup>2</sup>Институт за превентивна медицина и токсикологија, Воена болница, Скопје, Македонија

<sup>3</sup>Хемиски факултет, Универзитет во Софија, Софија, Бугарија

### ЦЕЛ

Многу метали се есенцијални за човекот кога тие се присутни во организмот во т.н. нормални концентрации. Во вишок тие исти супстанции се отровни. Исто така, и хронични подолготрајни експозиции, дури и на средина со ниска содржина на некои елементи, може а доведе до сериозни ефекти на здравјето. Токсичноста на тешките метали при несоодветен третман на токсикацијата со тешки метали може да доведе до значителна морбидност и морталитет. Во овој труд се прикажани различни методи за определување на некои тешки метали (никел, хром, манган и кобалт) во крвен серум и урина со примена на електротермичката атомска апсорпциона спектрометрија (ЕТААС).

### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

#### Инструментација

Испитувањата се извршени со атомски апсорпционен спектрометар Varian Spectra AA 640Z Zeeman AAS опремен со GTA100 графитна печка и PSD-100 автосемплер. Како атомизери се користени пиролитички заштитени графитни цевки и цевки со централно фиксирана платформа. Применет е аргон како гас за пречистување. Оптимизирани се инструменталните услови за работа со графитната печка за секој поединечен елемент.

#### Реагенси и примероци

Работните стандардни раствори се подготвувани со растворање на основни раствори (Merck). Сите користени хемикалии се со аналитички степен на чистота. Водород пероксид е произведен во Лабораторијата за високочисти супстанции при Универзитетот во Софија, Бугарија, и е дополнително пречистуван со јонска измена. Некои од употребените хемикалии се исто така дополнително пречистувани.

За валидација на методите користени се различни референтни стандардни примероци од серум и урина. Користениот прибор е пречистуван со концентрирана азотна киселина и редестилирана вода. Примероците се земани од здрави лица, професионално експонирани работници и пациенти на хемодијализа.

### РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Електротермичката атомска апсорпциона спектрометрија е една од најчесто применуваните инструментални техники за определување на траги од елементи во крвен серум и урина. При овие определувања присутни се два главни пристапи: прелиминарна сепарација и претконцентрација или директно воведување на примерокот во графитната цевка. Сепарационите методи се долготрајни а може да доведат и до контаминација и систематски грешки. Затоа директното определување има значителна предност. Меѓутоа, влијанието на матрицата е ограничувачки фактор при директните определувања. Некои од овие проблеми може да се надминат со разредување или додавање на различни хемиски модификатори.

Предложени се различни методи на термичко разложување на примероците. Утврдено е дека директното определување на Ni со ЕТААС е скоро невозможно поради високата вредност на апсорпцијата на фонот. Затоа е предложено додавање на H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> како модификатор на матрицата, којшто од своја

страна го олеснува термичкото разложување на протеините во фазата на жарење на примероците. До ова доаѓа поради тоа што  $H_2O_2$  ослободува слободен кислород којшто ја помага оксидацијата на протеините во атоми со што се обезбедува пиролиза на примероците од серум и урина без остатоци во графитната цевка. Експериментите исто така покажуваат дека додавањето на глицин како модификатор ја намалува температурата на атомизација на Ni и овозможува негово определување со ETAAS при истите инструментални услови. Утврдено е дека оптимална температура на жарење е 1200 °C додека на атомизација изнесува 2100 °C за серум и 2200 °C за урина.

Предложени се и оптимални инструментални услови за определување на Co. Водород пероксидот е предложен како модификатор при директното определување на Co со ETAAS. Негова предност е во можноста за елиминација на остатоците од јаглерод коишто се формираат на крајот на атомизацијата. Важно е да се одржува што е можно пониска температура на атомизација поради избегнување на неспецифичната апсорпција. Како оптимална температура за атомизација е утврдена температура од 2100 °C за пиролитички заштитени графитни цевки и 2300 °C за графитни цевки со централно поставена платформа.

Mn е определуван со два вида на корекција на фонот: со деутериум и со Зеeman. Најдено е дека додавањето на азотна киселина значително го редуцира сигналот на фонот. Ефектот на  $HNO_3$  е исто така забележан и во зголемувањето на температурата на пиролиза и атомизација на примероците овозможувајќи комплетно согорување на органската матрица во графитната цевка.

За определувањето на Cr применети се два типа на атомизери: графитни цевки со и без платформа. Испитувани се неколку модификатори за директно определување на Cr во серум и урина ( $H_2O_2$ ,  $HNO_3$  и  $Mg(NO_3)_2$ ). И за определување на Cr во ниски концентрации во органска матрица е важно да се обезбеди висока температура на пиролиза за да се овозможи целосна минерализација на примерокот. Резултатите од испитувањата покажаа дека  $H_2O_2$  дава најдобри резултати. Утврдено е дека температури на пиролиза од 700 до 800 °C даваат подобри форми на апсорпционите сигнали како и пониски вредности на неспецифичната апсорпција. Утврдено е дека подобри резултати се добиваат ако се користат обични графитни цевки отколку оние со платформа.

Границата на детекција за Ni изнесува 0,2  $\mu\text{g/l}$  за серум и урина, додека релативната стандардна девијација (RSD) во концентрационо подрачје на Ni од 0,5-2  $\mu\text{g/l}$  е 10-15% за серум и 8-10 % за урина. Границата на детекција за Co е 0,1  $\mu\text{g/l}$  за двете матрици додека RSD од 5-20% во зависност од концентрацијата на Co. За примероци од серум со пониска концентрација на Co од границата на детекција, предложена е метода на течно-течна екстракција. Со оваа метода границата на детекција за определување на Co е намалена на 0,02  $\mu\text{g/l}$ . Границата на детекција за определување на Mn во серум и урина изнесува 0,2 и  $\mu\text{g/l}$  со примена на деутериумова корекција и 0,1 и  $\mu\text{g/l}$  при примена на Зеeman-ова корекција на фонот.

Предложените постапки се валидирани со методот на стандардни додатоци и со нивна примена за определување на испитуваните метали во стандардни референтни примероци од серум и урина. Прикажани се и резултати од определувањето на овие елементи во примероци од серум и урина од здрави лица, лица професионално изложени на супстанции на овие метали како и од пациенти на хемодијализа.

## DETERMINATION OF SOME HEAVY METALS IN HUMAN SERUM AND URINE BY ELECTROTHERMAL ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY

*Trajce Stafilov<sup>1</sup>, Nadica Todorovska<sup>2</sup>, Irina Karadjova<sup>3</sup> and Sonja Arpadjan<sup>3</sup>*

**1Institute of Chemistry, Faculty of Science, Sts. Cyril and Methodius University, Skopje, Macedonia**

**2Institute of Preventive Medical Care and Toxicology, Military Health Institution Center, Skopje, Macedonia**

**3 Faculty of Chemistry, University of Sofia, Sofia, Bulgaria**

### INTRODUCTION

In the right concentrations, many metals are essential to life. In excess, these same chemicals can be poisonous. Similarly, chronic low exposures to heavy metals can have serious health effects in the long run. Heavy metal toxicity represents an uncommon, yet clinically significant, medical condition. If unrecognized or inappropriately treated, heavy metal toxicity can result in significant morbidity and mortality.

In this work methods for the determination of some heavy metals (nickel, chromium, manganese and cobalt) in human blood serum and urine by Electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS) are described.

## MATERIAL AND METHODS

### Instrumentation

The atomic absorption spectrometer Varian Spectra AA 640Z Zeeman AAS equipped with GTA100 graphite furnace and PSD-100 autosampler was used. Pyrocoated tubes and tubes with centre fixed platforms were used as atomizers. Argon was applied as protective gas. Graphite furnace operating parameters were optimized.

### Reagents and samples

The working standard solutions were prepared by dissolving the Merck stock solutions. All used chemicals were of analytical grade. Hydrogen peroxide produced in the Laboratory for High Purity Substances (University of Sofia, Bulgaria) was additionally purified by ion exchange. Some of the chemicals were additionally purified by recrystallization.

Different blood serum and urine referent standard samples were used as reference materials for method validation. All disposable devices were rigorously cleaned shortly before use by immersion in hot concentrated nitric acid and rinsing with doubly distilled water. Serum and urine samples were obtained from presumably healthy volunteers, dialyzing patients and occupationally exposed subjects.

## RESULTS AND DISCUSSION

Electrothermal atomic absorption spectrometry is one of the most frequently used techniques among the instrumental methods applied for trace elements determination in blood serum and urine. Two main approaches could be distinguished in their determination in blood serum and urine samples: preliminary separation and preconcentration or direct sample introduction into the graphite tube. Separation procedures are time consuming and may introduce contamination and serious systematic errors. Therefore direct spectrometric determination is preferable. However, matrix interferences were seen as limited factor in this case. Some of those problems are overcome by using previous sample dilution or by adding of different chemical modifiers.

Different methods for thermal decomposition of proteins are suggested. It was found that direct ETAAS measurement of Ni in serum is almost impossible due to very high values of background absorption. Therefore, in the case of nickel determination hydrogen peroxide was proposed as matrix modifier, assisting thermal decomposition of proteins during the ashing step. It might be assumed that H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> evolves free oxygen, assists oxidation and dissociation of proteins into atoms thus ensuring virtually residue free ashing of the serum. Experiments performed showed that glycine as modifier decreases the required atomization temperature for Ni and permits its correct ETAAS determination in aqueous solutions under the same instrumental parameters. A pyrolysis temperature of 1200 °C was found as optimal while 2100 °C and 2200 °C were found as optimal atomizing temperatures for nickel in serum and urine, respectively.

For Co optimal instrumental parameters as well as suitable atomizer, calibration procedure and hydrogen peroxide as modifier are proposed for direct ETAAS determination. The advantage achieved with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as modifier is the elimination of carbon residue formed at the end of the atomization cycle. It is very important to keep the atomization temperature as low as possible, because a rise in the atomization temperature leads to a higher values of nonspecific absorption: for pyrocoated tubes the optimal atomization temperature is around 2100 °C and for tubes with centre fixed platform around 2300 °C.

Mn was determined by both deuterium and Zeeman background corrections, and it was found that the presence of nitric acid significantly reduces background signal. The effect of HNO<sub>3</sub> is also evident in the increasing the pyrolysis and atomizing temperatures ensuring complete ashing of the organic matter and absence of any carbonaceous residue buildup inside the graphite tube.

For Cr determination two atomizers, wall and centre fixed platform, and several modifiers have been tested and critically compared for the determination of low levels of Cr in serum and urine samples without sample pretreatment. The modifiers tested include commonly used: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HNO<sub>3</sub> and Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Normally relatively high pyrolysis temperatures could be used for Cr determination, so the action of the modifier in this case is to assist complete matrix mineralization and removal during ashing step. In the presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> the build up of carbonaceous residue is also avoided and finally this modifier is selected for all further investigations. Unexpectedly with ashing temperature between 700 to 800 °C better shaped absorbance signals as well as lower values of nonspecific absorption were observed. As a main conclusion wall atomization is recommended for Cr ETAAS determination in serum and urine samples.

The limits of detection for Ni is 0.2 µg/l for both serum and urine samples. Relative standard deviations (RSD) in the concentrations of Ni in the range of 0.5-2 µg/l are 10-15% for serum and 8-10 % for urine samples. The detection limit for Co is 0.1 µg/l for both matrices and RSD varied in the range 5-20% depending on the Co concentration in the sample. For serum samples with Co content lower than the detection limit, separation and preconcentration procedure based on liquid/liquid extraction is suggested prior to determination of Co in the organic phase by ETAAS. This procedure permits determination of 0.02 µg/l Co in serum samples with RSD in the range 10-18 %. Limit of detection of manganese in serum and urine was 0.2 µg/l for method with deuterium correction, and 0.1 µg/l for method with Zeeman correction.

Validity of the methods is verified by the standard addition method and by their application to standard reference materials. Data for the concentration of these elements in serum and urine samples from presumably healthy volunteers, occupationally exposed workers and patients on hemodialysis are given.

## ПОВРЕДИТЕ НА РАБОТА ВО БИТОЛСКОТО СТОПАНСТВО

*Велјановски Т.*

**Здружение за заштита при работа, Битола, Македонија**

**ЦЕЛ:** Следење на повредите на работа по време, тежина, последици, анализа и мерки за спречување, отстранување и намалување на истите. **МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ:** Материјалите се добиени од преку 25 годишната евиденција водена во работните организации од службите за заштита при работа, референти или лица задолжени за таа цел, а собирани на крајот на секоа година во здружението за заштита при работа каде е вршена аналитичка обработка во соработка со инспекцијајата на трудот. Во текот на март и ли април наредната година на собрание на здружението се исткнувани резултатите. **РЕЗУЛТАТИ:** За оваа пригода опфатен е период од 1995 до 1999 год. со број на вработени 27890 во 1995 до 20927 во 1999 год. Преку извршените анализи констатирана е следната положба: За пет години на фкупно анализирани вработени 124414 работници се случиле 3378 повреди од кои 3223 лесни, 148 тешки повреди и седум смртни случаи. Во просек се случиле 27.14 ф годишно повреди од кои 25.08 ф лесни 1.96 ф тешки и 0.09 ф смртни случаи. Изгубените работни денови од лесни и тешки повреди (без смртните случаи) се движат од 10 до 13.5 по повреден работник. Од извршените анализи на економски план повредите на работа со смртните случаи го товарат националниот доход на Битола од 0.5 до 1.1% годишно. **ДИСКУСИЈА:** Врз основа на меѓународни норми и законската регулатива во заштитата на трудот постои обврска за евидентирање и следење на повредите на работа. Преку анализите и сознанијата за бројот, тежината, времето и местото на настанот, староста на машините, возраста на работниците и други фактори, потрбно е превземање на мерки и отстранување на недостатоците. Битен фактор е да се подигне културата на работата, употребата на нова технологија и нејзино одржување за што се потребни поголеми инвестиции, а со тоа ќе се намалат повредите и ќе се постигне неколкуструко зголемување на економската добивка.

## OCCUPATIONAL INJURIES IN THE ECONOMY OF BITOLA

*Veljanovski T.*

**Association of Occupational Safety, Bitola, Macedonia**

**AIM:** To detect the occupational injuries, the time of their occurrence, their severity and consequences, analyse and define the activities for their prevention and reduction. **MATERIAL AND METHODS:** The data were obtained from the records of the departments of occupational safety in working organizations, collected at the end of every year in the Association of Occupational Protection, statistically processed in cooperation with the Labor Inspection, and presented in front of the Assembly of the association during March or April of the following year. **RESULTS:** For this occasion we processed data from a 5-year period, 1995-1999. The number of employed in Bitola's economy in 1995 was 27830, whereas in 1999 it was 20927. In this period, out of the total of 124414 workers included in this study, in 3378 cases (27,14‰ per year) occupational injuries occurred, 3223 mild (25,08‰ per year), 148 severe (1,96‰ per year) and 7 lethal (0,09‰ per year). The number of lost workdays due to mild and severe injuries varies between 10 and 13,5 per injured worker. The economic analysis shows that occupational injuries, including the lethal ones, present a burden on Bitola's national income of 0,5-1,1% per year. **DISCUSSION:** According to international standards and legal regulations concerning labour protection, there is an obligation for registration of occupational injuries. Analyzing the number, severity, time and place of their occurrence, as well as the age of the machinery, age of the workers and other factors, we came to the conclusion that urgent actions need to be taken and the defaults need to be removed. It is important to improve workers' workplace manners and to introduce new technologies. Although this requires larger investments, it will reduce the number of occupational injuries and provide considerable economic gain.