

ИНСТИТУТ ЗА ХЕМИЈА, ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ,
УНИВЕРЗИТЕТ "СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ", СКОПЈЕ, Р. МАКЕДОНИЈА

ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА МАНГАН ВО КРВЕН СЕРУМ И СУСПЕНДИРАНИ ЦВРСТИ ЧЕСТИЧКИ ВО ВОДУХОТ СО ЕЛЕКТРОТЕРМИЧКА АТОМСКА АПСОРПЦИОНА СПЕКТРОМЕТРИЈА

Трајче Стафилов

A method for the determination of manganese in blood serum by Zeeman electrothermal atomic absorption spectrometry was presented. The preparation of the samples was done by deproteinization with trichloroacetic solution. The optimal instrumental conditions were established by extensive testing and they are: Dry: 110 °C, 45 s; Pyrolyze: 700 °C, 10 s; Atomize: 2400 °C, 3 s. The values obtained from analyses of manganese in sera of 150 professional exposed workers on manganese compounds were between 0.8-7.2 µg/L (main value 2.11 µg/L). The limit of detection for this method is 0.1 µg/L. It was found that the content of heavy metals in the suspended particular matters (SPM) from the air in Skopje is higher in the samples from the urban areas and those near ferromanganese smelting plant.

ВОВЕД

Професионалното труење со манган (манганизам) е релативно ретка болест со хроничен тек, предизвикана најчесто со вдишување на прашина од оксиди на манган [1]. Прв поопширен опис на труење со манган потекнува дури од почетокот на овој век. Погolem број на труење со манган е дијагностициран и објавен по Првата светска војна, а по Втората светска војна се забележани бројни труења со манган во чилеанските, мароканските и кубанските рудници на манган [2].

Манганот е есенцијален елемент. Тој е конститутивен дел на ензимите пируват карбоксилаза и супероксид дисмутаза, но може да активира и многу други ензими.

Покажано е дека тој ја стимулира синтезата на хондротин сулфатот, важен конституент на сврзивното ткиво [3, 4].

Иако манганот и неговите соединенија се јавуваат во многу индустрии, труењата се ограничени на релативно мал број извори. Најчесто се манифестира кај работниците во млинови за пиролизит, во производството на акумулатори, во производството на манганови легури и при употреба на брзи пневматски дупчалки [4-6]. Сугерирано е дека мангановите катјони се потоксични отколку анијоните, и дека манган (II) е за три пати потоксичен од манган (III) катјонот [7]. Постојат резултати од истражувања на акутни токсични ефекти на манганот при внесување на калиум перманганат или при вдишување на честички од манган оксид со многу мали димензии [8].

Хроничното труење со манган може да се развие после експозиција на високи концентрации на Mn за само неколку месеци. Литературните податоци укажуваат на влијанието на манганот на заболувања на белите дробови (bronхитис, пнеумонија) кај работници изложени на манганова прашина, како што се рудници, металуршки постројки, но и на населението кое живее во околината на тие објекти [1, 5, 6, 9-13].

Различни се ставовите околу тоа која е максимално дозволената концентрација на Mn во воздухот, но од страна на Светската здравствена организација таа концентрација се препорачува да не надминува 0,3 mg/m³ [1]. Во Република Македонија максимално

дозволената концентрација на Mn (или неговите соединенија) во воздухот во работната средина изнесува 2 mg/m^3 , додека средната дневна максимално дозволена концентрација на манганот и мангановите соединенија (пресметани како MnO_2) во амбиентниот воздух изнесува $0,01 \text{ mg/m}^3$.

Првите укажувања за појавата на манганизмот датираат од триесеттите години [14, 15]. Манганизмот се поврзува со токсичното дејство на манганот и неговите соединенија кај луѓето кои работеле во различни рудници [14-18], во постројки за производство и преработка на фероманган [19-21], при консумирање на храна или вода контаминирани со манган [22]. Се претпоставува дека Mn може да се акумулира и во влакната (косата) после изложеноста во средина со повисоки концентрации на Mn [1, 4-6].

Како резултат на различните токсични дејства на манганот се јавува и нужната потребата од следење на застапеноста на манганот во различните биолошки материјали (крв, урина, ткива, плазма и друго), при што, секако, најважно е следењето на застапеноста на манганот во крвта и урината. Исто така, посебно е важно да се следи застапеноста на манганот и во работната средина и во амбиентниот воздухот.

Атомската апсорпциона спектрометрија (пред се, ETAAS), е најприменуваната техника за определување на манганот во биолошки материјали. Досега се објавени околу 200 статии за определувањето на манган во крв, крвен серум, урина, коски, ткива од различни органи (бубрези, црни дроб), храна и сл. Во однос на определувањето на манганот во крвниот серум ETAAS целосно ги задоволува границите во кои манганот се среќава.

Целта на овој труд е да се направи преглед на резултатите од определувањето на Mn во крвен серум со примена на атомската апсорпциона спектрометрија и манган во пращината во воздухот на неколку мерни места во Скопје.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Инструментација

За анализите на манган користен е Зеeman-ов атомски апсорпционен спектрометар Varian SpectrAA-604 З, опремен со графитна печка GTA 100 и автоматски внесувач на образец. Како извор на светлина користена е ламба со шуплива катода за манган.

Реагенси и стандардни раствори

Користени се раствори со висок степен на чистота. Употребен е 5% (m/V) раствор од трихлороцетна киселина. Стандардниот раствор од манган со масена концентрација од $1 \text{ } \mu\text{g/mL}$ е приготвен со растворање на $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ во редестилирана вода.

Постапка за определување на Mn во крвен серум

Во чисти и суви кивети се внесува аликвот со волумен од $0,3 \text{ mL}$ од секој примерок крвен серум, $0,3 \text{ mL}$ од 5% раствор од трихлороцетна киселина и $0,5 \text{ mL}$ редестилирана вода, со помош на микропипета. Смештата се центрифугира 30 s во центрифуга. Бистриот раствор над талогот, со декантирање, се префрла во пластични кивети кои се поставуваат во автосемплерот.

Пред да се отпочне со анализа на Mn со електротермичка атомска апсорпциона спектрометрија, неопходно е да се определат оптималните експериментални услови. За секоја фаза (сушење на пробата, жарење, атомизација и чистење на киветата) потребно е да се определат и оптималната температура, брзината на покачувањето на температурата ($^{\circ}\text{C/min}$) и времето на задржувањето на постигнатата температура. Определувањето на оптималните инструментални параметри е вршено со следење на промената на апсорбанцата на Mn. Вредностите на определените параметри за анализа се дадени во Табела 1.

За конструкција на калибрационен дијаграм користен е стандарден раствор на Mn со концентрација од 10 µg/L. Инјектирањето на стандардниот раствор е вршено со автосемплер. За покривање на ова концентрационо подрачје, земени се аликвоти со волумен од 1, 2, 3, 5, 7 и 10 µL. Калибрациониот дијаграм е приготвен со нанесу-

вање на вредностите на апсорбанцата на Mn за секоја соодветна концентрација (Сл. 1). Со регресиона анализа добиена е калибрациона равенка од втор степен.

Аналитичката зависност на апсорбанцата од концентрацијата на Mn е даден со равенката:

$$\gamma(\text{Mn})/\mu\text{g/L} = 11,177 \cdot A^2 + 9,8301 \cdot A - 0,0125$$

каде A претставува апсорбанца за соодветната маса на манган внесена во графитната печка. Пресметаниот коефициент на корелација изнесува 0,9984. Границата на детекција на методата изнесува 0,1 µg/L.

Со примена на оваа метода извршено е определување на Mn во 150 проби од крвен серум приготвен од проби од крв земена од вработени во Топилницата за фероманган од Скопје.

ПОСТАПКА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА МАНГАН ВО ПРОБИ ОД ПРАШИНА

Испитувањата на содржината на тешки метали во воздухот се извршени со два вида на уреди за земање на пробите: нисковолуменски – LVS (во периодот декември 1997 – февруари 1998) и високоволуменски анализатори - HVS (период април-септември 1998 и јануари 1999). Со LVS се земени проби со димензии на честичките од 2,5, 5 и 10 µm, додека дијаметарот на честичките земени со HVS се: „2,0, од 2,0 до 10 и ,10 µm.

Припремањето на растворите е извршено со растворање на прашина од филтрите на кои се земени пробите со смеша од киселини.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Резултатите од овие определувања покажаа дека концентрацијата на Mn во испитуваните проби се движи од 0,80 до 7,20

µg/L, при што средната вредност за сите испитувани проби изнесува 2,11 µg/L. Како што може да се види од резултатите прикажани во Табела 2, најголем број од пробите имаат концентрација под 2 µg/L. Добиените вредности се во границите за застапеноста на Mn утврдени од поголем број на автори [23-52] дадени во Табела 3.

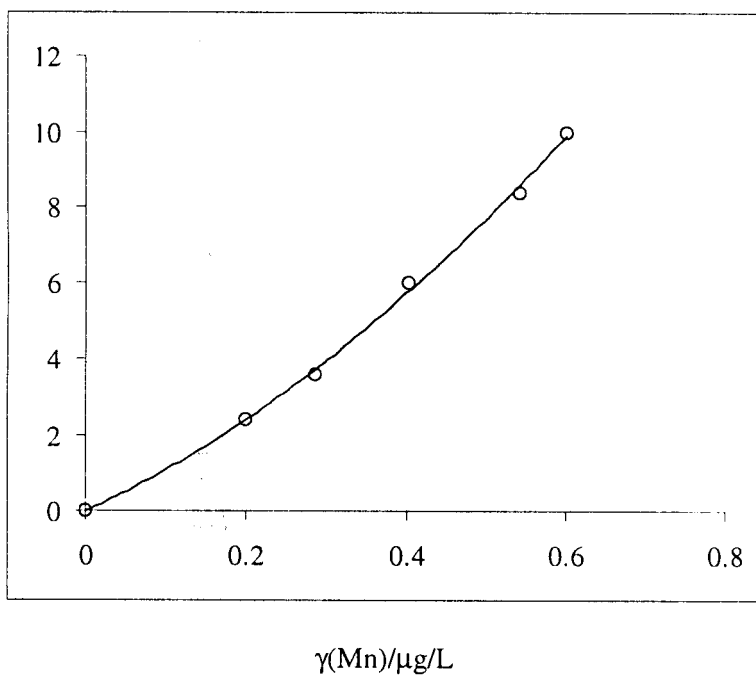
Од вредностите за концентрацијата на Mn во серум определена од различни автори (Табела 3) се гледа голема варијација на вредностите кои што се движат од 0,54 до 24 µg/L. Некои автори посветуваат големо внимание на можната контаминација на пробите при земањето на пробите. Вериек и сор. [25, 53] утврдиле дека челичните игли за земање на пробите од крв може да ја контаминираат пробата со Mn. Ова контаминирање на пробите може да ја објасни повисоката концентрација на Mn при некои определувања. Во последно време, за оптимални концентрации на Mn во серум од субјекти кои не се професионално изложени на контаминација на Mn-соединенија се смета дека се движи од 0,50-1,30 µg/L [54].

Резултатите од испитувања за содржината на тешките метали во воздухот се дадени во Табелите 4 и 5.

Табела 1. Оптимални инструментални услови за определување на Mn со ETAAS

ПАРАМЕТАР	
Бранова должина	279,5 nm
Процеп	0,2 nm
Калибрационен мод	Апсорбанца, висина на пик
Инертен гас	Аргон
СУШЕЊЕ	
Температура	110 °C
Време на сушење	45 s
ПИРОЛИЗА	
Температура	700 °C
Време на покачување и задржување на температ.	10 s / 5 s
АТОМИЗАЦИЈА	
Температура	2400 °C
Време на покачување и задржување на температ.	3 s / 0 s
ЧИСТЕЊЕ	
Температура	2700 °C
Време на чистење	3 s

A



Сл. 1. Калибрационен дијаграм за определување на манган со ETAAS

Табела 2. Концентрација на манган во испитуваните проби од крвен серум

Концентрациони граници	Број на проби	% од вкупниот број на проби
< 1 µg/L	5	3,33
1,01 – 1,5 µg/L	48	32,00
1,51 – 2,0 µg/L	36	24,00
2,01 – 2,5 µg/L	21	14,00
2,51 – 3,0 µg/L	19	12,67
3,01 – 4,0 µg/L	10	6,67
> 4 µg/L	11	7,33
Вкупно (ср. вред. 2,11 µg/L)	150	100,0

Табела 3. Концентрации на манганот во серум определени од различни автори

Автор(и)	Год.	Аналит. метода	Ср. вред., µg/L	Област, µg/L	Бр. суб-јекти	Лит.
Uchida, Vallee	1986	ETAAS	0,52	-	-	23
Damsgaard et al.	1973	NAA	0,54	0,36-0,78	11	24
Versieck et al. 0.57 0.130.38-1.04 46 21	1974	NAA	0,57	0,38-1,04	46	25
Halls, Fell	1981	ETAAS	0,58	0,36-0,96	-	26
Cotzias et al.	1966	NAA	0,59	-	14	27
Neve, Leckercq	1991	ETAAS	0,59	0,40-0,80	-	28
Sabbioni et al.	1990	ETAAS	0,65	0,10-2,95	-	29
Apostoli, Minoia	1990	ETAAS	0,72	0,10-3,10	-	30
D Amico, Klawans	1976	ETAAS	1,02	0,74-1,25	19	31
Pleban, Pearson	1979	ETAAS	1,82	0,94-2,92	-	32
Grafflage et al.	1974	ETAAS	1,94	0,50-7,87	50	33
Papavasiliu, Cotzias	1961	AAS	2,50	2,05-2,97	16	34
Banta, Markesberg	1977	ETAAS	-	2,1-3,1	-	35
Favier et al.	1982	ETAAS	1,17	-	-	36
Sirisena et al.	1986	ETAAS NAA	1,47	-	109	37
Tsai et al.	1986	ETAAS	4,20	0,3-11,2	36	38
Olehy et al.	1966	NAA	4,3	-	12	39
Sullivan et al.	1966	NAA	6,0	-	37	40
Stafilov, Rizova	1994	ETAAS	7,7	4,2-9,3	20	41
Bayer	1986	ETAAS	8,43	-	-	42
Wei et al.	1982	ETAAS	8,87	4,00-19,3	27	43
Muzzarelli, Rocchetti	1975	ETAAS	9,0	5-16	9	44
Bowen	1956	NAA	9,7	-	-	45
Alt, Massman	1976	ETAAS	-	10-20	-	46
Hwang et al.	1972	ETAAS	11,0	-	-	47
Kanabrocki et al.	1967	NAA	13	11-14	-	48
Bek et al.	1974	ETAAS	13,4	6,5-18	5	49
Ross, Gonzales	1974	ETAAS	21,8	8,5-40,5	-	50
Salvadeo et al.	1979	ETAAS	23,0	5,0	12	51
Mahoney et al.	1969	AAS	24,0	12-38	40	52
Оваа работа	1998	ZETAAS	2,11	0,80-7,20	150	-

Табела 4. Резултати од анализата на тешки метали во проби од SPM во воздухот земен со Andersen-ов LVS на различни места во Скопје

Проба	Елемент, µg/mg							
	Zn	Fe	Pb	Mn	Cr	Cu	Ni	Cd
1*	0,226	6,24	1,278	0,748	0,145	0,154	0,172	0,037
2*	0,158	7,76	1,273	1,067	0,096	0,091	0,201	0,071
3**	0,169	3,07	1,006	0,577	0,095	0,159	0,147	0,011
4***	0,581	13,89	7,071	0,795	0,042	0,530	0,303	0,035
5***	0,398	21,55	3,473	1,236	0,136	0,408	0,202	0,022

*PM10 µm, неурбана област, **PM2,5 i 5,0 µm, неурбана област, ***PM10 µm, урбана област

Од резултатите во Табела 4 може да се види дека концентрацијата на тешките метали (вклучувајќи го и манганот) се повисоки во СPM земен во урбана област во однос на оние од неурбаната средина. Испитувањатат на застапеноста на СPM во воздухот во Скопје се вршени на 4 места (Гази Баба, Центар, Карпош и Лисиче). Од резултатите прикажани во Табела 5 може да

се забележи дека содржината на Mn во воздухот е под границите кои се определени со нашите стандарди. Сепак, може да се забележи дека содржината на манганот во самата прашина, во најголем број на случаи, е највисока во пробите земен од мерното место во Гази Баба коешто е блиску до Топилницата за фероманган.

Табела 5. Резултати од анализата на манган во СPM во воздухот земен со HVS (честички под 2 µm)

Месец/ Мер. место	Април 1998		Мај 1998		Јуни 1998		Јули 1998		Авг. 1998		Јан. 1999	
	µg/m ³	w _{Mn} / %	µg/m ³	w _{Mn} / %	µg/m ³	w _{Mn} / %	µg/m ³	w _{Mn} / %	µg/m ³	w _{Mn} / %	µg/m ³	w _{Mn} / %
Гази Баба	0,018	0,044	0,031	0,160	0,011	0,026	0,010	0,038	0,036	0,207	0,009	0,010
Центар	0,014	0,031	0,023	0,104	0,010	0,024	0,011	0,031	0,020	0,062	0,008	0,004
Карпош	0,029	0,071	0,012	0,054	0,006	0,015	0,009	0,040	0,009	0,024	0,008	0,004
Лисиче	-	-	0,015	0,063	0,009	0,022	0,013	0,034	0,017	0,031	0,016	0,013

ЗАКЛУЧОК

Вредностите добиени од анализата на манган во серум кај 150 професионално експонирани работници се движат од 0,8-7,2 µgr/L (со средна вредност 2,11 µgr/L).

Содржината на тешките метали во суспендираните партикуларни честички во воздухот на Скопје е повисока во урбаната сценина и во средината близу до Топилницата.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Manganese, Environmental Health Criteria 17*, WHO, Geneva, 1981.

2. *Air quality guidelines for Europe*, WHO Regional Publications, European Series No. 23, WHO, Copenhagen, 1985, pp. 262-271.

3. Utter MF, *Med. Clin. North Am.*, 1976; 60: 713-727.

4. M. Šarić, *Manganese in Handbook on the Toxicology of Metals, 2nd edition* (L. Friberg, G. F. Nordberg, V. Vouk, eds.), Elsevier Science Publishers, Notherdam, 1986, pp. 354-386.

5. M. Šarić, *Biological effect of manganese*, U.S. Environmental Protection Agency, EPA Report No. 600/1-78-002, North Carolina, 1978.

6. M. Šarić, A. Makrušević, O. Hrustić, *Occupational exposure to manganese. British J. Ind. Med.*, 1977; 34, 114-8.

7. *Scientific and Technical Assessment Report on Manganese*, U.S. Environmental Protection

- Agency, EPA Report No. 600/6-75-002, Washington, 1975.
8. Dagli AJ, Golden D, Finkel M, Austin E, *Dig. Dis.*, 1973; 18, 1091-94
 9. T. A. Lloyd Davis, *Br. J. Ind. Med.*, 3, 111-35 (1946).
 10. T. A. Lloyd Davis, H. E. Harding, *Br. J. Ind. Med.*, 6, 82-90 (1949).
 11. J. Rodier, *Br. J. Ind. Med.*, 12, 21-33 (1955).
 12. K. Nogawa et al., *Jpn. J. Public Health*, 20, 315-25 (1973).
 13. R. Berstrom, *Scan. J. Work Environ. Health*, 2, 1-41 (1977).
 14. J. Dantin Gallego, *L'Hygiene et la Pathology dans le Travail avec le manganese*, Publ. 445, Instituto Nacional de prevision, Madrid, 1935.
 15. H. E. Buttner, E. Lenz, *Int. Arch. Gewerbepathol. Gewerbehyg.*, 7, 672-84 (1937).
 16. M. Garcia Avila, R. Penalver, *Ind. Med. Surg.*, 22, 220-1 (1953).
 17. G. L. Khazan et. al., *Vrach. Delo*, 1-5, 277-91 (1956).
 18. V. S. Chandra, P. K. Seth, J. K. Mankeshwar, *Environ. Res.*, 7, 374-80 (1974).
 19. S. Dogan, T. Beritić, *Arh. Hig. Rada*, 4, 139-288 (1953).
 20. H. A. Rosenstock, G. D. Simons, S. J. Meyer, *J. Am. Med. Assoc.*, 217, 1354-58 (1971).
 21. L. T. Smyth, R. C. Ruhf, N. E. Whitman, T. Dugan, *J. Occup. Med.*, 15, 101-9 (1973).
 22. R. Kawamura, H. Ituka, S. Fukuzimi, R. Yamada, S. Tsubaki, S. Kurata, *Kitasato Atch. Exp. Med.*, 18, 145-69 (1944).
 23. T. Uchida, B. L. Valec, *Anal. Sci.*, 2, 71 (1986).
 24. E. Damsgard, K. Heydon, N. A. Larsen, B. Nielson, *Simultaneous Determination of Arsenic, Manganese and Selenium in Human Serum by Neutron Activation Analysis*, Riso Report No. 271, 1973.
 25. J. Versieck, F. Barbier, A. Speecke, J. Hoste, *Clin. Chem.*, 20, 1141 (1974).
 26. D. J. Halls, G. S. Fell, *Anal. Chim. Acta*, 129, 205 (1981).
 27. G. C. Cotzias, S. T. Miller, J. Edwards, *J. Lab. Clin. Med.*, 67, 836 (1966).
 28. J. Neve, N. Leclercq, *Vlin. Chem.*, 37, 723-28 (1991).
 29. E. Sabbioni, P. Apostoli, C. Minoia, *Applicazioni dell'ETAAS Zeeman*, Vol. 2 (C. Minoia, S. Caroli, Eds.), Libreria Cortina, Padova, 1990.
 30. P. Apostoli, C. Minoia, *Applicazioni dell'ETAAS Zeeman*, Vol. 2 (C. Minoia, S. Caroli, Eds.), Libreria Cortina, Padova, 1990.
 31. D. J. D Amico, H. L. Klawans, *Anal. Chem.*, 48, 1469 (1976).
 32. P. A. Pleban, K. H. Pearson, *Clin. Chem.*, 25, 1915 (1979).
 33. V. B. Grafflage, G. Buttgerreit, W. Kubler, H.-M. Mertens, *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.*, 12, 287 (1974).
 34. P. S. Papavasiliu, G. C. Cotzias, *J. Biol. Chem.* 236, 2365 (1961).
 35. R. G. Banta, W. R. Markesbery, *Neurology*, 27, 213 (1977).
 36. A. Favier, D. Ruffieux, A. Alcaraz, B. Maljournal, *Clin. Chim. Acta*, 124, 239 (1982).
 37. K. Sirisena, S. Silinuntavid, N. Ratanalert, S. Muangnoicharoen, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 102, 369 (1986).
 38. J. L. Tsai, S. M. Lin, *Hua Hsien*, 44, 19 (1986).
 39. D. A. Olehy, R. A. Schmitt, W. F. Bethard, *J. Nucl. Med.*, 7, 917 (1966).
 40. J. F. Sullivan, A. J. Blotcky, M. J. Jetton, H. K. J. Hahn, R. E. Burch, *J. Nutr.*, 109, 1432 (1979).
 41. T. Stafilov, V. Rizova, *Contribution Mac. Acad. Sci. Art.*, 15, 29 (1994).
 42. W. Bayer, *Fortsch. Atomspectrom. Spurenanal.*, 2, 197 (1986).
 43. F. Wei, F. Yin, *Anal. Lett.*, 15, 633 (1982).
 44. R. A. A. Muzzarelli, R. Rocchetti, *Talanta*, 22, 683 (1975).
 45. H. J. M. Bowen, *J. Nucl. Energy*, 3, 18 (1956).
 46. F. Alt, H. Massmann, *Z. Anal. Chem.*, 279, 100 (1976).
 47. J. W. Hwang, P. A. Ullucci, L. J. Mokeler, Eastern Analytical Simposium, Atlantic City, N.J., 1972.
 48. E. L. Konabrocki, L. F. Case, L. Graham, T. Fillds, E. B. Miller, Y. T. Oester, E. Kaplan, *J. Nucl. Med.*, 8, 166 (1967).
 49. F. Bek, J. Janouskova, B. Moldan, *At. Absorpt. Newsl.*, 13, 47 (1974).
 50. R. T. Ross, J. G. Gonzales, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 12, 470 (1974).
 51. A. Salvadeo, C. Minoia, S. Segagni, G. Villa, *Int. J. Artif. Organs*, 2, 17 (1979).
 52. J. P. Mahoney, K. Sargent, M. Greland, W. Small, *Clin. Chem.*, 15, 312 (1969).

53. J. Versieck, A. Speecke, J. Hoste, F. Barbier, *Clin. Chem.*, 19, 481 (1973).

54. D. L. Tsalev, *Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health*

Practice, Vol. III, *Progress in Analytical Methodology*, CRC Press, Boca Raton/New York, 1995, pp. 143-149.