

*А.О. Бедзай¹, О.М. Щербина², канд. фарм. наук, доцент,
І.О. Щербина³, Б.М. Михалічко², д-р хім. наук, професор
(¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
²Львівський державний університет безпеки життєдіяльності,
³Управління охорони здоров'я, м. Львів)*

ЕКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ СПОЛУК МАНГАНУ НА ПРОМИСЛОВИХ І БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТАХ

Манган і його сполуки широко використовуються у промисловості. Проведений токсикологічний аналіз засвідчив, що Манган є життєво необхідним мікроелементом організмів, бере активну участь в біологічних процесах. Однак, сполуки мангану є дуже токсичними і, тому, існує велика небезпека отруєнь сполуками мангану. Нами розроблена методика виділення сполук мангану з біологічних об'єктів та повітря. Проведено виявлення і кількісне визначення мангану в біологічному матеріалі, біологічних рідинах і в повітрі фотоколориметричним методом і за допомогою якісних реакцій.

Ключові слова: екологічний аналіз, манган, екстракція з біологічних об'єктів, якісні реакції, фотоколориметрія

А.А. Бедзай, О.Н. Щербина, І.А. Щербина, Б.М. Михалічко

ЕКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ СОЕДИНЕНИЙ МАРГАНЦА НА ПРОМЫШЛЕННЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

Марганец и его соединения широко используются в промышленности. Проведенный токсикологический анализ свидетельствует, что марганец является жизненно важным для организма микроэлементом, активно участвует в биологических процессах, которые осуществляются в организме, но, тем не менее, соединения марганца являются весьма токсичными и, поэтому, существует большая опасность отравлений марганцем. Нами разработана методика выделения соединений марганца из биологических объектов и воздуха. Проведено выявление и количественное определение марганца в биологическом материале, биологических жидкостях и в воздухе фотоколориметрическим методом и с помощью качественных реакций.

Ключевые слова: экологический анализ, марганец, экстракция из биологических объектов, качественные реакции, фотоколориметрия

A.A. Bedzay, O.N. Scherbina, I.A. Scherbina, B.M. Mykhalitchko

ECOLOGICAL ANALYSIS OF TOXIC INFLUENCE OF MANGANESE COMPOUNDS ON INDUSTRIAL AND BIOLOGICAL OBJECTS

Manganese and its compounds are broadly used in industry. The performed environmental analysis testifies that manganese, as vital microelement, actively participates in biological processes taking place in a human organism. Nevertheless manganese compounds are very toxic and therefore there is a vast risk of poisonings by manganese. We have elaborated a method of extracting manganese compounds with biological objects and air. The detection and quantitative determination of manganese in biological material, biological liquids and in air were performed by a photocolorimetric method and by means of qualitative reactions.

Key words: environmental analysis, manganese, extraction from biological objects, qualitative reactions, photocolorimetry.

Постановка проблеми. Манган, хімічний елемент з порядковим номером 25, важкий, крихкий і сріблясто-білий метал (температура топлення 1244°C , температура кипіння 2080°C і $\rho = 7,44 \text{ г/см}^3$), легко взаємодіє з атмосферним киснем і добре розчиняється в кислотах. Манган широко використовується в промисловості для виробництва легированої сталі, дзеркального чавуну і феромарганцю. Та все ж, марганець є вкрай токсичним металом і тому в багатьох галузях промисловості виникає небезпека марганцевого отруєння.

Аналіз ранніх досліджень та публікацій. Максимально допустима концентрація марганцю в повітрі робочого приміщення становить $0,05 \text{ мг/м}^3$ [1-4]. Однак, гостре токсичне отруєння металічним марганцем відбувається не так часто, тоді як сполуками мангану – часте явище. Летальна доза при разовому вживанні солей мангану становить 15-20 г [4]. При цьому спостерігається подразнення слизової оболонки дихальних шляхів, очей і головний біль. В багатьох випадках відбувається розлад кровообігу, слабкість і задуха. У разі хронічного отруєння марганцем простежується погіршення центральної нервової системи, зміна функцій в серцево-судинній системі, стравоході і печінці. Головний мозок надчутливий до надлишку мангану, його тривала дія призводить до зростання захворювань хворобою Паркінсонф [5-8]. В праці [9] зазначено, що в експериментах з тваринами їхня вагітність у разі передозування сполуками мангану завжди завершується вродженими аномаліями.

Натомість Манган, як життєво важливий мікроелемент, бере активну участь в біологічних процесах живих організмів. Добова потреба в цьому елементі – кілька міліграмів (3-8 мг Mn щодня потрапляє в організм з їжею). Манган, головню, нагромаджується в кістках, печінці, нирках і підшлунковій залозі. Нормальний вміст Мангану в крові становить 0,012-0,050 мг. Дефіцит мангану в організмі викликає затримку росту, демінералізацію кісткової тканини [9-11]. Найбільший вміст мангану є в зернах, пластівцях, чорному чаї, грецьких горіхах, червоній смородині і бананах [12].

З хімічної точки зору деякі сполуки мангану (наприклад, KMnO_4) при нагріванні легко розкладаються з вивільненням газоподібних продуктів, які підтримують горіння. В свою чергу порошкоподібний манган(IV) оксид (MnO_2) – теж сильний окисник, він може підсилювати горіння, хоча сам по собі – негорючий. Жертва отруєння сполуками мангану, найперше, потребує доступу свіжого повітря. Біль в животі, розгубленість, діарея, порушення функції центральної нервової системи – головні симптоми отруєння.

Оскільки Манган – дуже поширений в природі елемент, якому відводиться певна біологічна роль в живих організмах, виявлення мангану є обов'язковою процедурою судово-хімічних обстежень внутрішніх органів жертв. В цьому плані чутливі й надійні методи для якісного і кількісного визначення Мангану є вкрай потрібні.

Мета роботи – розробка методів якісного і кількісного визначення Мангану в біологічному матеріалі, біологічній рідині і повітрі за допомогою фотоколориметрії і кольорових реакцій.

Результати експерименту та обговорення. В судово-хімічному аналізі передовсім токсичний метал ізольовують від біологічного матеріалу з допомогою мінералізації. Процес отруєння металічними сполуками, як відомо, супроводжується комплексоутворенням металів з білками, а також їх гідролізом. Саме тому для виділення токсичних металів з біологічного матеріалу використовувались методи, засновані на розкладанні білків чи інших речовин, що містяться в досліджуваних матеріалах. Отже, в роботі ми застосували метод сухого озолення, який фактично зводиться до звичайного спалювання внутрішніх органів чи інших біологічних тканин. За таких умов металеві отрути частково або цілком випаровуються. З іншого боку, метод мінералізації водного потоку засновується на окисненні органічних речовин усіма типами окисників (наприклад, гідроген пероксид, нітратна кислота, хлорновата кислота, калій перхлорат тощо) які є в рідкому стані. В межах цього методу ми використовували суміш сульфатної і нітратної кислот або сульфатної, нітратної і хлорноватої кислот. (Увага! Ця суміш – вибухонебезпечна [4, 12, 13]).

Екстрагування мангану з біологічного матеріалу. Досліджуваний на предмет вмісту мангану біологічний матеріал (100 г печінки чи нирки) спочатку подрібнювали, потім поміщали в колбу К'ельдаля, і додавали 75 мл суміші, що містила однакові об'єми концентрованої сульфатної, нітратної кислот і дистильованої води. Колбу кріпили на штативі і над нею встановлювали ділильну лійку, наповнену розбавленою нітратною кислотою (1:1). Розкладання біологічного матеріалу здійснювали на малому полум'ї впродовж 40 хв. При цьому, реакційний розчин світлів і набував жовтуватого чи коричнюватого відтінку. Далі колбу нагрівали на більшому полум'ї з подальшим додаванням розчину нітратної кислоти з ділильної лійки. Це призводить до цілковитої мінералізації біологічного матеріалу; процес тривав 3-4 години. Мінералізація вважається завершеною, коли із розчину при нагріванні (без додавання нітратної кислоти) виділятиметься біла пара сульфатної кислоти, а мінералізація вже більше не темнітиме [2, 4].

Під час руйнування біологічного матеріалу утворюється певна кількість нітроген оксидів, нітритної кислоти і нітросилу сульфатної кислоти ($\text{HO-SO}_2\text{ONO}$). Це перешкоджає виявленню катіонів в мінералізаті. Для того щоб усунути цю проблему, необхідно провести денітрування. До охолодженого мінералізату додали 15 мл киплячої води, і потім краплями додали формалін. При цьому нітроген оксиди виділялись в вигляді газових бульбашок. Процес денітрування тривав 1-2 хв. Для перевірки повноти проходження реакції денітрування, нами була проведена реакція з амін біфенілом в концентрованій сульфатній кислоті. У разі коли з'являтиметься синій колір, процес денітрування слід продовжувати. Коли ж мінералізація більше не реагуватиме з розчином амін біфенілу (ознакою є зникнення синього кольору), то цей процес вважається таким, що завершився. Залишок формаліну усували нагріванням. Розчин амін біфенілу готували розчиненням 0,5 г амін біфенілу в суміші концентрованої сульфатної кислоти і води (100:20) [2, 4].

Мінералізація поміщають в колбу і об'єм цієї колби доводять водою до позначки 200 мл. Реакційну суміш залишають на 20 год стояти за кімнатної температури. Коли випадає білий осад, його відфільтровують та відкидають. При цьому в суміші міститимуться йони Ba^{2+} і Pb^{2+} . Однак, якщо утворюється сірувато-зеленкуватий осад, то тоді Cr^{3+} йони будуть знаходитися в суміші. У свою чергу, йони мангану виявляють у фільтраті фракційним методом, використовуючи кольорові реакції з калій періодатом KIO_4 (темно-червоний) або амоній персульфатом $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (від рожевого до червоно-фіолетового) [2, 12].

До 1 мл мінералізату додавали 1 мл насиченого розчину фосфатної кислоти (зادля усунення домішок іонів Fe^{3+}), 0,2 мл 1 н. розчину сульфатної кислоти і 0,2 г кристалічного калій періодату або 0,5 г амоній персульфату. За умови, що окисником виступатиме амоній персульфат, додають кілька крапель розчину аргентум нітрату (як каталізатор) і вміст нагрівають на киплячому водяному нагрівачі впродовж 20 хв. Забарвлений в червоний чи малиново-червоний колір розчин розбавляють водою (до позначки 10 мл) і фотоколориметрують при $\lambda = 525$ нм (ФЕК 56-М, ширина кювети – 10 мм). Розчином порівняння виступає 20% розчин сульфатної кислоти. Колір розчину буде стійким доволі тривалий час.

Перекристалізований калій перманганат використовували для побудови калібрувального графіка. Готували стандартний розчин калій перманганату (10 мкг/мл). Всі зазначені вище реагенти добавляли до стандартного розчину в кількостях 0,1, 0,3, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 і 3,5 мл і вимірювали їхню оптичну густину. Знову ж таки розчином порівняння слугував 20 % розчин сульфатної кислоти. Засновуючись на отриманих даних будували калібрувальний графік залежності оптичної густини розчину від їхньої концентрації (Рисунок). Розчини, що містять йони MnO_4^- підкоряються закону Бугера-Ламберта-Бера в концентраційних межах 1-30 мкг/мл. Таким чином, концентрацію мангану в зразку визначають за графіком.

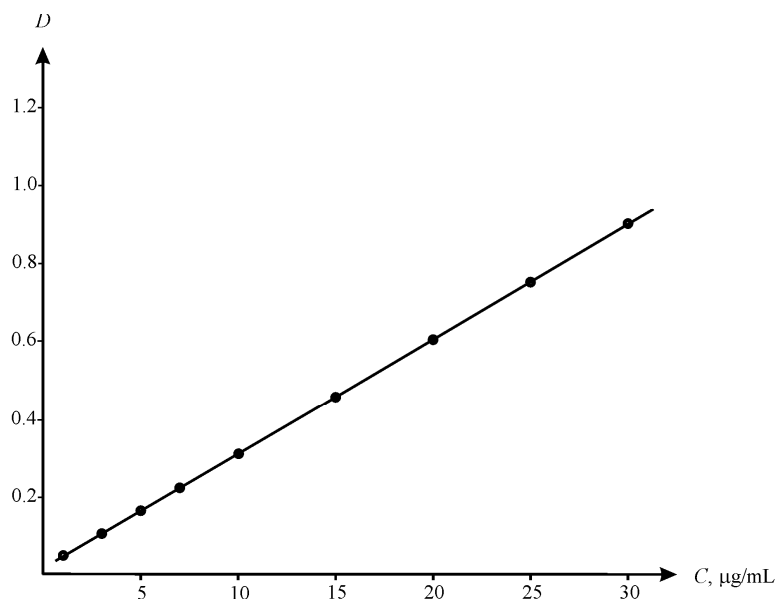


Рисунок – Калібрувальний графік залежності оптичної густини (D) розчинів від їхньої концентрації

Визначення мангану в сечі. До 20 мл сечі, що містить сполуки мангану додали 2 мл аміачного буферного розчину для рН 9,5. Отриману суміш екстрагували хлороформом три рази по 10 мл. Об'єднані разом екстракти випарювали. Твердий залишок розчиняли в 10 мл 50% сульфатної кислоти. В отриманому розчині проводили якісні реакції і кількісне визначення мангану за методикою, описаною вище.

Визначення мангану в повітрі. Повітря (50 л) в забрудненій манганом зоні (об'ємна швидкість 10 л/хв) аспірували крізь фільтр АФА-СМ, що перебуває в патроні. Щонайменше п'ять зразків повітря треба було послідовно відібрати. Фільтр вкладали в тигель і спалювали в муфельній печі при 50°C до цілковитого спопеління. Далі його обробляли 2 мл сульфатної кислоти при нагріванні і розчин випарювали на піщаному нагрівачі. Твердий залишок розчиняли в 20 мл 5% сульфатної кислоти. По осадженні відібрали 5 мл зразка, до якого додали 0,2 мл 2% розчину аргентум нітрату (як каталізатор) з 1 мл 10% розчину амоній персульфату. Таким чином утворилась малиново-червона перманганатна кислота. Оскільки йони феруму перешкоджають виявленню йонів мангану, то до досліджуваного розчину додають 1 мл 50% фосфатної кислоти. Потім цей розчин нагрівали і після охолодження здійснювали фотокolorиметрування. Вміст Мангану визначали за калібрувальним графіком.

Висновки. Проаналізовано токсичний вплив сполук мангану на довкілля і з'ясовано біологічну роль цього елемента як життєво важливого для людини мікроелемента, що бере активну участь в біологічних процесах живих організмів. Стрімке збільшення концентрації Мангану у повітрі робочих приміщень засвідчує, що проблема здатна суттєво впливати на екологію і може постати набагато гостріше у зв'язку зі зростанням викидів забруднювальних речовин промисловими підприємствами.

Для розв'язання цієї проблеми слід здійснювати сталий моніторинг за вмістом сполук мангану у повітрі і в біологічних об'єктах. Отримана інформація підтверджує, що варто втілювати в практику наукову і обґрунтовану екологічну політику, спрямовану на розробку методів швидкого аналізування сполук мангану.

З цією метою нами був удосконалений метод екстрагування мангану з різноманітних біологічних об'єктів і з повітря. Якісні реакції були використані нами для виявлення йонів мангану в екстрактах. Кількісне визначення йонів мангану здійснювали фотокolorиметрично.

Список літератури:

1. **Крамаренко В.Ф.** Токсикологічна хімія / В. П. Крамаренко. – К. : Вища школа, 1995. – 424 с.
2. **Крамаренко В.Ф.** Химико-токсикологический анализ. / В.Ф. Крамаренко. – К. : Вища школа, 1982. – 272 с.
3. **Трахтенберг И.М.** Тяжелые металлы во внешней среде / И.М. Трахтенберг, В.С. Колесников, В.П. Луковенко. – Минск : Наука и техника, 1994 – 288 с.
4. **Швайкова М.Д.** Токсикологическая химия / М.Д. Швайкова. – М. : Медицина, 1975. – 376 с.
5. **Verity M. A.** Manganese neurotoxicity: a mechanistic hypothesis / M. A. Verity. // *Neuro Toxicology*. – 1999. – Vol. 20. – No 2-3. – P. 489-497.
6. **Zheng W.** Iron overload following manganese exposure in cultured neuronal, but not neuroglial cells / W. Zheng, Q. Zhao. // *Brain Res*. – 2001. – Vol. 897. – No 1-2. – P. 175-179.
7. **Zheng W.** Alteration of iron homeostasis following chronic exposure to manganese in rats / W. Zheng, Q. Zhao, V. Slavkovich, M. Aschner, J. H. Graziano. // *Brain Res*. – 1999. – Vol. 833. – No 1. – P. 125-132.
8. **Lee J.-W.** Manganese Intoxication / J.-W. Lee. // *Arch. Neurol*. – 2000. – Vol. 57. – No 4. – P. 597-599.
9. **Lai J.C.** Manganese mineral interactions in brain / J.C. Lai, M.J. Minski, A.W. Chan, T.K. Leung, L. Lim. // *Neuro Toxicology*. – 1999. – Vol. 20. – No 2-3. – P. 433-444.
10. **Treinen K. A.** Developmental toxicity of manganodipirtrisodium and manganese chloride in Sprague-Dawley rats / K. A. Treinen, T. J. Gray, W. F. Blazak. // *Teratology*. – 1995. – Vol. 52. – No 2. – P. 109-115.
11. **Ono K.** Myoclonic involuntary movement associated with chronic manganese poisoning / K. Ono, K. Komai, M. Yamada. // *J. Neurol. Sci*. – 2002. – Vol. 199. – No 1-2. – P. 93-96.
12. **Плетенева Т.В.** Токсикологическая химия / Т.В. Плетенева. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 512 с.
13. **Болотов В.В.** Посібник до практичних занять з токсикологічної хімії / В.В. Болотов, Е.І. Стадніченко, В.С. Бондар. – Харків : Основа, 1997. – 169 с.

References:

1. **Kramarenko, V.F.** (1995). *Toxicologic chemistry*. Kyjiv: Vyscha shkola (in Ukr.)
2. **Kramarenko, V.F.** (1982). *Chemical and toxicologic analysis*. Kyjiv: Vyscha shkola (in Ukr.)
3. **Thahtenberg, I.M.,** Kolesnikov, V.S. & Lukovenko, V.P. (1994). *Heavy metals in environment*. Minsk: Nauka i Tehnika [in Belar.].
4. **Shvaikova, M.D.** (1975). *Toxicologic chemistry*. Moscow: Medicina [in Russ.].
5. **Verity, M.A.** (1999). Manganese neurotoxicity: a mechanistic hypothesis *Neuro Toxicology*, 20, 2-3, 489-497.
6. **Zheng, W. & Zhao, Q.** (2001). Iron overload following manganese exposure in cultured neuronal, but not neuroglial cells. *Brain Res*, 89, 1-2, 175-179
7. **Zheng, W.,** Zhao, Q., Slavkovich, V., Aschner, M. & Graziano, J. H. (1999). Alteration of iron homeostasis following chronic exposure to manganese in rats. *Brain Res*. 833, 1, 125-132
8. **Lee, J.-W.** (2000). Manganese Intoxication. *Arch. Neurol*, 57, 4, 597-599
9. **Lai, J.C.,** Minski, M.J., Chan, A.W., Leung, T.K. & Lim, L. (1999). Manganese mineral interactions in brain. *Neuro Toxicology*, 20, 2-3, 433-444
10. **Treinen, K.A.,** Gray, T.J. & Blazak, W.F. (1995). Developmental toxicity of manganodipirtrisodium and manganese chloride in Sprague-Dawley rats. *Teratology*, 52, 2, 109-115
11. **Ono, K.,** Komai, K. & Yamada, M. (2002). Myoclonic involuntary movement associated with chronic manganese poisoning *J. Neurol. Sci*, 199, 1-2, 93-96.
12. **Pletniova, T.V.** (2005). *Toxicologic chemistry*. Moscow: GEOTAR-Media (in Russ.)
13. **Bolotov, V.V.,** Stadnichenko, E. I. & Bodnar, V. S. (1997). *Manual to a practical training from toxicological chemistry*. Kharkiv: Osnova, (in Ukr.)