

BESTIMMUNG VON MANGAN IN BLUT MITTELS NEUTRONAKTIVATIONSANALYSE

Von

E. KOCSIS, M. KOVÁTS* und M. MOLNÁR**

Lehrreaktor der Technischen Universität Budapest

(Eingegangen am 28. Januar 1980)

Einleitung

Die Metallspurenanalyse in biologischen Stoffen stellt viele Probleme. Probenahme, Speicherung, der Spurenelementgehalt eventueller Aufschlußmitteln usw. bergen zahlreiche Fehlermöglichkeiten in sich. Die Analysemethoden, die Verwendung verschiedener Referenzstoffe können auch große Abweichungen zwischen den Befunden der einzelnen Autoren verursachen.

Wie bekannt, liegen die einzelnen Spurenelemente in wesentlich verschiedenen Konzentrationen in den einzelnen Organen vor, wobei auch dasselbe Element in den verschiedenen Individuen der Bevölkerung gegebenenfalls in Funktion des Alters, des Geschlechts, der Beschäftigung oder Ernährungsgewohnheiten in je verschiedenen Konzentrationen nachzuweisen ist. Dies macht die Bestimmung der Durchschnittskonzentrationen in der Bevölkerung schwierig.

Gleicherweise ist es ziemlich schwer eindeutige kausale Zusammenhänge zwischen der Konzentration der einzelnen Spurenelemente und gewissen Krankheiten oder pathologischen Veränderungen zu finden.

Trotz dieser vielen Schwierigkeiten sind heute dank der ausdauernden Arbeit und der engen Zusammenwirkung von Chemikern und Ärzten bzw. Biologen viele Daten und Zusammenhänge zwischen der Menge der einzelnen Spurenelemente des Organismus oder irgendeiner biologischen Substanz und gewissen pathologischen Symptomen oder Veränderungen bekannt. In diesem Gebiet soll die große Bedeutung der Aktivationsanalyse besonders hervorgehoben werden. Auch in Ungarn befaßten sich mehrere Versuchsstellen mit der Aktivationsanalyse von Blut [1, 2].

Die gegenwärtige Arbeit bezweckte die Bestimmung des Mangangehalts von Blut. Mangan ist nämlich ein Spurenelement, dessen Rolle im Organismus noch nicht befriedigend geklärt ist. Einige Forscher sind der Meinung, daß Mangan im menschlichen Organismus nach einer längeren Latenzzeit schädliche Wirkung ausüben kann, eine Wirkung die verbleibend und unheilbar ist.

* Wissenschaftliches Forschungsinstitut für Eisenbahnwesen

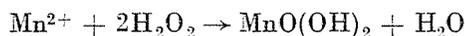
** Hygienisches Institut für die Ungarische Staatsbahnen (MÁV)

Vom Gesichtspunkt der Arbeitshygiene halten wir es daher für wichtig, den Mangangehalt im Blut der bei den Ungarischen Eisenbahnen (MÁV) einer Mangan-Exposition ausgesetzten Werk tätigen, wie z. B. Metallschweißern und Schleifern unter verschiedenen Umständen zu verfolgen, und möglicherweise irgendeinen Zusammenhang zwischen dem Mangangehalt und dem Gesundheitszustand der erwähnten Werk tätigen nachzuweisen.

Prinzipielle, methodologische Überlegungen und Untersuchungen

Aus ausgebreiteten diesbezüglichen Untersuchungen ist es bekannt [3], daß die Mangankonzentration im Vollblut 0,03 ppm beträgt, während die Menge des bei der Bestimmung mittels Aktivationsanalyse störenden Chlorids, Kaliums und Natriums 2—3000 ppm beträgt. Wegen des Unterschiedes von 5 Größenordnungen zwischen zu bestimmenden und Störsubstanzen kann die Bestimmung des gesagten Spurenelements nur nach Digestion des Blutes und Abtrennung der Störelemente vorgenommen werden.

Hydratiertes Antimonpentoxid (HAP) hält in 6 n salzsäures Medium den totalen Natriumgehalt der mit Schwefelsäure + Wasserstoffperoxidgemisch zerstörten Blutprobe zurück [4]. Wegen der schwierigen Beschaffung des HAP, sowie der weiterhin benötigten Entfernung des störenden Kaliums und Chlorids entschieden wir uns für eine chemische Präzipitations-Trennungsmethoden [5, 6]. Bei diesem Verfahren konnte die Abtrennung des Mangans mit Sulfid nur bei einem Verlust von 10% realisiert werden, doch war die Trennung des vierwertigen Mangans mittels Oxidation mit Brom oder Wasserstoffperoxid gleichwohl verlustfrei. Wegen der guten Filtrierbarkeit des Niederschlages, der Schnelligkeit des Verfahrens, sowie der Vermeidung der Brominhalationsgefahr wurde die Manganfällung mit Wasserstoffperoxid gewählt. Von dem laut Reaktion



sich abscheidenden Manganoxid-Hydrat wurde festgestellt, daß dieses unter unseren Verhältnissen (in mild alkalischem Medium) auch den Kupfergehalt des Blutes vollständig bindet, so daß auch Kupfer in demselben Vorgehen wie Mangan bestimmbar sein wird.

Die genauen Umstände dieser Bestimmung werden gegenwärtig ausgearbeitet.

Experimenteller Teil

Probenahme. In das zur Bestrahlung verwendete Polyäthylen (PÄ)-Gefäßchen wurde 0,5—1,0 g Blut eingewogen, sodann 1 Tropfen „Heparin“ Antikoagulant zugesetzt, und das Gefäß heißversiegelt.

Bestrahlung. Die Bestrahlung wurde in einem vertikalen Kanal des Lehrreaktors der TU vorgenommen, wobei der Neutronenfluß $\Phi = 2 \cdot 10^{11}$ n.cm⁻²s⁻¹ betrug. Jedes einzelne Bestrahlungsgefäßchen wurde mit einer Kupferfolie monitoriert, um den aus der geometrischen Abweichung des Flusses sich ergebenden Fehler zu vermeiden.

Die Zeitdauer der Bestrahlung war 5 Stunden.

Zerstörung. Das eingestrahlt Blut wurde von dem kleinen PÄ Gefäß in einen 50 ml Rundkolben überführt. Die Menge des im Gefäßchen bleibenden Blutes wurde durch Zurückwägung bestimmt. Die Blutprobe wurde dann mit 0,5 ml Schwefelsäure (sp. G. = 1,83) und einigen Tropfen 30%igen Wasserstoffperoxids (sp. G. = 1,4) versetzt, sodann an einem Sandbad erhitzt. Der mild siedenden Lösung wurde bis zur Entfärbung in Raten und tropfenweise das noch benötigte Wasserstoffperoxid zugegeben.

Fällung. Der verbleibend farblosen Lösung wurden mit einer Pipette 5—8 ml 2× destilliertes Wasser, sodann 3 Tropfen Methylrot-Indikator, 1 mg Mangan und 5 Tropfen 30%iges Wasserstoffperoxid zugegeben. Sodann wurde behutsam, bis zum Umschlag des Indikators 5 m Natriumhydroxid in den Kolben getropft und durch Erwärmung auf 60—70 °C das Manganoxyhydrat abgeschieden. Durch behutsame Zugabe von 1—2 Tropfen Wasserstoffperoxid überzeugten wir uns von der vollkommenen Abscheidung. Die Lösung soll klar, leicht gelblich, das Präzipitat kompakt, gut filtrierbar sein.

Filtrieren, Waschen. Das abgesetzte Präzipitat wird durch dichtes, quantitatives Filterpapier, zweckmäßigerweise in einer Filtermaschine filtriert, und der Niederschlag in 2—3 Raten mit 30 ml destilliertem Wasser gewaschen.

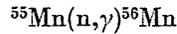
Nach Absaugen in Vakuum wird die auseinandergenommene Filtermaschine mit Watte ausgewischt und die Watte auch in die den Niederschlag enthaltende Meßzelle gelegt.

Messen. Das Gammaspektrum des Niederschlages wurde mit einem ICA70-1k Multikanalanalysator der KFKI* mit einem Princeton Gamma Tech. Ge(Li) Halbleiterdetektor von 25 cm³ Aktivvolumen aufgenommen (Auflösungsvermögen auf die ⁶⁰Co Spitze von 1332,5 keV bezogen etwa 2 keV). Die detektierten Signale gelangten durch einen Hauptverstärker von Canberra-Typ in den Amplitudenanalysator. Die Detektorspannung betrug 2700 V.

* Zentralforschungsinstitut für Physik der Ung. Akad. der Wissenschaften, Budapest

Die Ausgabe der in der Speichereinheit des Analysators gespeicherten Spektren erfolgte in analoger Form mit einem Hewlett-Packard X—Y Kurvenschreibgerät und in digitaler Form mit einem Schnelldrucker.

Das aus Mangan sich bildende radioaktive Isotop, dessen Gesamtenergiespitze (846,9 keV) gemessen wurde, ist



Die Auswertung erfolgte mittels Relativmethode, d. h. mit Hilfe von mit der Probe gemeinsam bestrahlten bekannten Manganmengen, durch Bestimmung der Fläche unter der Spitze mit der Covell-Methode.

Es wurden Kühlzeit-, Fluß- sowie Totzeitkorrekturen unternommen.

Die Standardabweichung des Mangangehalt-Durchschnittswertes war aufgrund von 6 parallelen Bestimmungen $\pm 20\%$.

Ergebnisse der Manganbestimmung

Der Mangangehalt des Blutes der die Bevölkerung representierenden 16 Personen ist in Tabelle 1 enthalten, und zwar laut Geschlecht getrennt und unter Angabe des Alters.

Der Durchschnitt stimmt mit dem von Bowen angegebenen [3] überein ($3 \cdot 10^{-8}$ g/g).

Die Abweichung vom Durchschnitt weist eine ziemlich große individuelle Streuung auf. Der durchschnittliche Mangangehalt im Blut der Frauen ist um 10% höher als der Gesamtdurchschnitt und um 22% höher als der der Männer.

Der durchschnittliche Mangangehalt im Blut von Schweißern bzw. Schleifern (3,57; Tabelle 2) übertrifft jedoch auch den von Frauen (3,25) und im Vergleich zum Männerdurchschnitt (2,67) beträgt diese Erhöhung 34%.

Wenn der Mn-Gehalt des Blutes in Funktion der von den Schweißern bzw. Schleifern in Arbeit verbrachter Zeit untersucht wird, kann festgestellt werden, daß dieser Wert in einem gewissen Maße ansteigt. Dieses Anwachsen ist auf den Durchschnitt der Schweißer bezogen bei den seit 25 Jahren arbeitenden Manganschleifern 57%, und auf den Durchschnitt der Männerbevölkerung (2,67) bezogen sogar mehr als 100%.

Da wenig diesbezügliche Daten zu Verfügung stehen, müssen weitere Untersuchungen in dieser Richtung fortgesetzt werden. (Es wäre auch sehr wichtig, die „Untergrund“-Mangankonzentration der einzelnen Personen bei der Aufnahme der Arbeit zu bestimmen, um dann die spätere Wirkung der Mangan-Exposition mit diesem Wert zu vergleichen.)

Tabelle 1
Mangangehalt im Blut der Bevölkerung*

Alter (Jahr)		Beschäftigung	Mn-Gehalt 10 ⁻⁸ g/g Blut	
Mann	Frau		Mann	Frau
	49	Bautechnikerin		5,15
	52	Pavillonbedienerin		4,91
24		Büffetbediener	4,6	
24		Schlosser	4,2	
	32	Bautechnikerin		3,88
	77	Pensionärin		3,84
	55	Hausfrau		3,75
35		Facharbeiter	2,69	
62		Schlosser	2,46	
40		Facharbeiter	2,3	
28		Musiker	2,28	
	56	Röntgenassistentin		2,11
34		Facharbeiter	1,53	
	39	Hilfsarbeiterin		1,5
40		Facharbeiter	1,37	
	19	Beruf unbekannt (schwanger)		0,89
		Durchschnitt	2,67	3,25

Durchschnitt der beiden Testgruppen $2,96 \cdot 10^{-8}$ g Mn/g Blut

* Die Bewohnerschaft wird durch 8 Männer und 8 Frauen repräsentiert, die aus den im Spital sich aus irgendeinem Grund meldenden Patienten zufallsweise ausgewählt wurden.

Aus technischen Gründen mußte das Blut von 3 Schleifern (von Bezeichnung 1, 2 und 3 in Tabelle 2) 4 Monate lang gespeichert werden. Während der Speicherung ergab sich ein eindeutiger Manganverlust.

Der Einfluß der Speicherung wurde in systematischen Untersuchungen geklärt. In 2 Monaten erfolgte ein Verlust von 30%. In der Zukunft werden die Blutproben durch Trocknen bei 105 °C konserviert, wobei wir hoffen, daß sich dadurch die vermutlich durch Adsorption auftretenden Verluste während der Speicherung vermeiden lassen.

Eine untersuchte Person wurde nach einer längeren Krankheit, also nach einer Manganexpositionspause untersucht. (Eine bessere Eindeutigkeit der Untersuchungen wurde dadurch erschwert, daß die Blutentnahme — ihr Zeitpunkt, ihre Häufigkeit, die entnommene Blutmenge — nicht in genügendem Maße der Forschung untergeordnet werden konnte.)

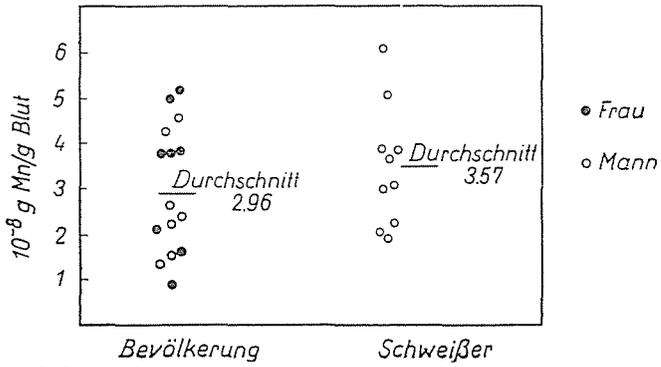


Abb. 1. Mangangehalt im Blut von Manganexposition nicht ausgesetzter Frauen und Männern, sowie Schweißern

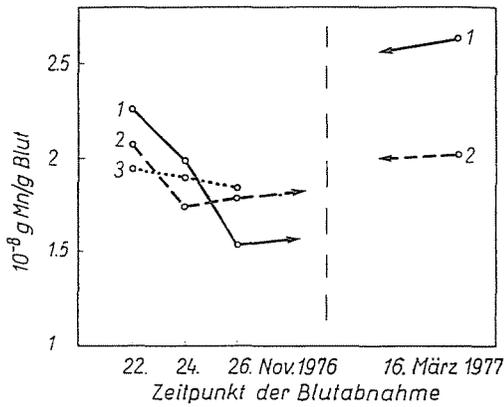


Abb. 2. Entleerung von Mangan aus dem Organismus bzw. Wirkung einer wiederholten Manganexposition

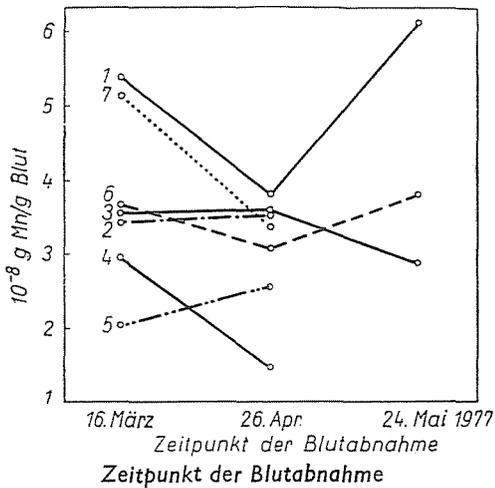


Abb. 3. Monatliche Änderung des Mangangehaltes der untersuchten Personen

Im wesentlichen veranschaulicht auch Abb. 1 das in Verbindung mit der vorangehenden Tabelle Gesagte.

Abb. 2 zeigt die Analysedaten der von denselben Arbeitnehmer mehrere Tage hindurch entnommenen Blutproben, zuerst während ihrer Behandlung im Sanatorium, dann nach Wiederaufnahme der Arbeit (März 16, 1977).

Bei allen drei untersuchten Personen kann eine deutliche Abnahme des Mangangehalts während ihrer Sanatoriumsbehandlung festgestellt werden, was eine Entleerung des Mangans aus dem Organismus anzeigt. Hingegen kann eine sofortige Erhöhung nach Aufnahme der Arbeit wahrgenommen werden. (Leider erschienen nachher diese Personen nicht regelmäßig für Blutentnahme!)

Abb. 3 zeigt den Mangangehalt der monatlich genommenen Blutproben der in Tabelle 2 bereits angeführten Werkstätigen. (Zur dritten Blutentnahme sind leider nur 3 Personen erschienen!)

Die Manganexposition der Periode zwischen den 16. März und 26. April war nicht gleichmäßig, da mehrere Feiertage und Freitage auf diese Periode fielen und die Blutentnahme stets nach Wiederaufnahme der Arbeit erfolgte.

Tabelle 2
Mangangehalt im Blut von Schweißern

Probe	Alter	Beschäftigung	Seit wie vielen Jahren	Mn-Gehalt 10^{-6} g/g Blut
B. J. (1))	52	Manganschleifer	25	6,12
Sz. Gy. (7))	57	Manganschleifer	25	5,15
Sz. J. (6))	53	Gußschleifer	4	3,78
D. S. (3))	55	Gußschleifer	5	3,73
H. I. (2))	51	Gußschleifer	8	3,53
H. J. (5))	45	Manganschweißer	2	3,08
M. J. (4))	?	Pensionierter Schweißer	?	3,00
B. I. (1)	42	Gußschleifer	17	2,61*
S. I. (2)	43	Gußschleifer	5	2,09*
T. J. (3)	43	Gußschleifer	23	1,96**

Nummerierung in Klammern () bezieht sich auf Abb. 1

Nummerierung in Klammern ()) bezieht sich auf Abb. 2

* Die Blutproben gelangten nicht nach einer mit der anderen Proben identischen Lagerzeit zur Zersetzung, sondern 4 Monate nach der Blutnahme. Die Patienten hielten sich wegen Silikoseverdacht im Sanatorium auf.

** Der Patient gelang nur nach längerem Krankenstand zur Untersuchung bzw. ins Sanatorium.

Folgerungen

Endfolgerungen, signifikante Zusammenhänge können aus den bisherigen Daten noch nicht gezogen werden. Gewisse Tendenzen sind wahrzunehmen, doch konnte zwischen dem Mangangehalt des Blutes und irgendeinem pathologischen Zustand kein Zusammenhang festgestellt werden. Für den Durchschnitt der Bevölkerung erhielten wir — trotz der relativ wenigen zahlenmäßigen Daten — in bezug auf Mangan mit denen von Bowen gut übereinstimmende Werte. Es gelang auch gewisse Unterschiede nach Geschlecht in der Mangankonzentration des Blutes nachzuweisen. Schließlich wurde festgestellt, daß im Blut der Arbeiter, die über eine längerer Zeit einer Manganexposition ausgesetzt sind, der Mangangehalt auf nahezu das Doppelte ansteigt.

Die Untersuchungen werden im Besitz der bisherigen Erfahrungen fortgesetzt.

Für die Hilfe bei der experimentellen Arbeit danken wir den Chemietechnikern Frau István Senk und József Szabó.

Zusammenfassung

Die Verfasser entwickelten zur Bestimmung des Mangangehalts im menschlichen Blut eine zerstörende Neutronaktivations-Analysenmethode.

Es wird über die methodologische Arbeit berichtet. Die Manganmenge im Blut der Schweißer der Ungarischen Eisenbahnen sowie der Durchschnittsbevölkerung wurde bestimmt. Für den Durchschnitt der Bevölkerung wurden auch aus den verhältnismäßig wenig Daten Werte erhalten, die mit den in der Literatur mitgeteilten sehr gut übereinstimmen. Es gelang ferner gewisse Unterschiede nach Geschlecht in der Mangankonzentration des Blutes festzustellen.

Im Blut der über längere Zeit einer Manganexposition ausgesetzten Arbeiter stieg die Mangankonzentration auf fast das Doppelte an. Zwischen dem Mangangehalt des Blutes und irgendeinem pathologischen Zustand konnte bisher kein Zusammenhang festgestellt werden.

Literatur

1. ÖRDÖGH, M.: Aktivationsanalyse biologischer Stoffe. A Kémia Újabb Eredményei, Band 34. (Red. B. Csákvári) Akadémiai Kiadó, Budapest, 1977 (Ungarisch)
2. KERTÉSZ, L.: Kísérl. Orvostud. 18, 627 (1966)
3. BOWEN, H. J. M.: Trace Elements in Biochemistry. Academic Press, New York—London 1966
4. GIRARDI, F.—PIETRA, R.—SABBIONI, E.: J. Radioanal. Chem. 5, 141 (1970)
5. ERDEY, L.: Gravimetrische Methoden der chemischen Analyse, B. I—II. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1962
6. SCHULEK, E.—SZABÓ, Z. L.: Prinzipielle Grundlagen und Methoden der quantitativen analytischen Chemie. Tankönyvkiadó, Budapest, 1966 (Ungarisch)

Dr. Elemér KOC SIS H-1521 Budapest

Márta KOVÁTS H-1450 Budapest, Pf. 78.

Dr. Miklós MOLNÁR MÁV, H-1134 Budapest, VI. Dózsa Gy. út 112.