Praćenje koncentracija odabranih elemenata rijetkih zemalja u serumu (ICP-MS)

Kajfeš, Karlo

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:636156

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Department of Chemistry, Osijek







Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

KARLO KAJFEŠ

Završni rad

PROCJENA KONCENTRACIJA ODABRANIH ELEMENATA RIJETKIH ZEMALJA U SERUMU (ICP-MS)

Mentor: doc.dr.sc. Vlatka Gvozdić

Akademska godina: 2018./2019.

Mjesto i datum: Osijek, 16.rujan 2019.

Sažetak

S obzirom na sve veću upotrebu elemenata rijetkih zemalja u različitim industrijama, posebno u elektronici, poljoprivredi i proizvodnji goriva od iznimne su važnosti istraživanja njihovih koncentracija u okolišu i ljudskom organizmu. U ovome istraživanju izabrano je dvanaest elemenata rijetkih zemalja cerij (Ce), disprozij (Dy), erbij (Er), europij (Eu), gadolinij (Gd), holmij (Ho), lantan (La), neodimij (Nd), praseodimij (Pr) i samarij (Sm) te je određena njihova koncentracija metodom masene spektrometrije induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS) u uzorcima seruma 357 ispitanika sa područja Istočne Hrvatske. Uzorci su izabrani sa pet različitih lokacija u Istočnoj Slavoniji, u Vladislavcima, Dalju, Čepinu, Našicama i Osijeku. Vrijednosti medijana nalazile su se ispod razine detekcije instrumenta za Er, Eu, Gd, Ho i Tm, dok su se za preostale istraživane elemente (Ce, Dy, La, Pr, Sm, Nd i Yb) bile također niske i kretale su se u rasponu od 0,011 do 0,189 μg L^{-1}.

Ključne riječi: lantanidi, metoda ICP-MS, serum, klaster analiza

Abstract

Considering the increase of use of rare eart elements (REEs) in industry, especially in electronic, industry and agriculture, the concerne of its presence in the environment and human organism is of great imortance. Twelve elements of rare earth elements were chosen: Cerium (Ce) Dyspprozium (Dy), Erbium (Er), Europium (Eu), Gadolinium (Gd), Holmium (Ho), Lanthanum (La), Neodymium (Nd), Praseodymium (Pr) and Samarium (Sm) and determined by their concentration by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, (ICP-MS) in 357 samples of serum. The samples were selected from five different locations in Eastern Slavonia, Vladislavci, Dalj, Cepin, Našice and Osijek. Median values were under the level of detection for the Er, Eu, Gd, Ho and Tm, while the remaining investigated elements (Ce, Dy, La, Pr, Sm, Nd and Yb) were also low and ranged from 0.011 to 0.189 μg L^{-1}.

Key words: Lanthanides, ICP-MS method, serum, cluster analysis

Sadržaj

Sažetak.....2

1. Uvod.....5

1.1.Otkriće elemenata rijetkih zemalja.....7

1.2. Zastupljenost elemenata rijetkih zemalja u prirodi..... 8

1.3. Kemijska svojstva i spojevi elemenata rijetkih zemalja.....8

1.4. Primjena elemenata rijetkih zemalja.....9

1.5. Utjecaj elemenata rijetkih zemalja na ljudsko zdravlje.....10

2. Ispitanici i metode.....11

2.1. Ispitanici i geografske značajke ispitivanog područja.....11

2.2. Metoda ICP-MS.....13

2.3. Obrada podataka.....14

3.Rezultati.....14

3.1 Rezultati osnovne statistike i Kruskal –Wallis test.....14

3.2. Rezultati klaster analize.....19

4.Diskusija.....32

5.Zaključak.....33

6.Literatura.....34

Content

Summary.....2

1.Introduction.....5

1.1. Discovery of rare earth elements.....7

1.2. Rare earth elements in nature.....8

1.3. Chemical properties and compounds of rare earth elements.....8

1.4. Application of rare earth elements.....9

1.5. Influence of rare earth elements on human health.....10

2. Participants and methods.....11

2.1. Participants and geographical characteristics of the study area.....11

2.2. Method ICP-MS 13

2.3. Data processing 14

3. Results.....14

3.1. Results of basic statistics and Kruskal – Wallis test.....14

3.2. Results of cluster analysis.....19

4. Discussion.....32

5. Conclusion.....33

6. Literature.....34

1. Uvod

Elementi rijetkih zemalja su erbij (Er), skandij (Sc),iridij (Ir), lantan (La), cerij (Ce), praseodimij (Pr), neodimij(Nd), prometij (Pm), samarij (Sm), europij (Eu), gadolinij (Gd), iterbij (Yb), disprozij (Dy), holmij (Ho), terbij (Tb), tulij (Tm) i lutecij (Lu). Elementi rijetkih zemalja članovi su 3. skupine u periodičnom sustavu elemenata. Podijeljeni su u 3 skupine: laki (lantan do europij), srednji (samarij do holmij) i teški (holmij do lutecij) Svi nabrojani osim skandija i iridija svrstavaju se u skupinu lantanida. Riječ je o sedamnaest elemenata koji dijele kemijska, fizikalna i mineraloška svojstva. Zbog svoje zastupljenosti u zemlji i međusobnoj sličnosti lantanidi su našli sve veću primjenu u industriji, a posebno u poljoprivredi. U Kini se gnojiva koja sadrže elemente rijetkih zemalja primjenjuju preko 30 godina. Kina je zemlja koja je najbogatija izvorima elementa rijetkih zemalja na svijetu, procjenjuje se da je njena industrijska pričuva 5 puta veća od drugih zemalja. Sukladno širokoj primjeni gnojiva koja sadržavaju elemente rijetkih zemalja, povećan je i broj istraživanja [1]. Provedena su istraživanja koja opisuju raspodjelu i bioakumulaciju elemenata rijetkih zemalja u pšenici, riži i povrću uzgojenom u južnoj i sjevernoj Kini. Nakon primjene gnojiva koja su sadržavala elemente rijetkih zemalja rezultati ukazuju na to da se elementi rijetkih zemalja u biljkama nakupljaju po slijedećem redoslijedu: korijen> list>stabljika>zrno. U tom istraživanju je primijećeno i značajno povećanje koncentracija elemenata rijetkih zemalja u povrću. Kineske studije pokazale su da je primjena gnojiva koja sadrže elemente rijetkih zemalja utjecala na povećanje sadržaja šećera u šećernoj trski , škroba u krumpiru, vitamina C u grožđu i jabukama, masti i proteina u soji i klorofila. Zabilježen je također utjecaj na rast i razvoj biljaka te utjecaj na povećanu aktivnost enzima. Međutim, za razliku od kineskih studija, u studijama u zapadnim zemljama rezultati su prilično kontroverzni i nije utvrđeno mogu li takva gnojiva poboljšati rast biljaka ili ne. Kinezi su također vodili studije oko primjena elemenat rijetkih zemalja kao aditiva u stočnoj hrani, te su uočili izrazita poboljšanja u rastu, razvoju i masi kod peradi i svinja. Osim u poljoprivredu elementi rijetkih zemalja imaju i imali su zabilježenu primjenu u medicini. U prošlosti su se nalazili u antiemeticima (Ce), a bili su također uspješno primjenjivani u antikoagulativnoj terapiji (Nd, Pr) , međutim odbačeni su zbog efektivnijih i manje štetnih lijekova.U današnje vrijeme se u medicini koristi lantan-

karbonat koji veže fosfat te liječi hiperfosfatemiju u kroničnom bubrežnom zatajenju, zatim cerijev nitrat koji se koristi za liječenje opeklina i ima antiseptičko i imunomodulacijsko djelovanje. Zbog antitumorskih učinaka istražuju se u liječenju i dijagnosticiranju raka. Zabilježeno je da gadolinij (Gd) pokazuje u magnetskoj rezonanci kontrasna svojstva. U budućnosti će se elementi rijetkih zemalja koristiti pri anti-inflamatornoj terapiji za zglobove, pri terapiji za osteoporozu, prevenciji karijesa te ateroskleroze. Medicinske studije su također došle do zaključka da se elementi rijetkih zemalja smatraju slabo toksičnima: s LD_{50} vrijednostima iznad 1 g/kg tjelesne težine pripisuju se njihovoj slaboj gastrointestinalnoj apsorpciji. Također je zabilježeno da oralna primjena 3g lantan- karbonata na dan u periodu od 4 godine nije imala štetne učinke. Međutim, toksičnost se povećava s drugim načinima primjene te ubrizgavanja u organizam . Vršena su se istraživanja na zamorcima, a intravensko ubrizgavanje je pokazalo veću toksičnost od napr intramuskularnog. LD_{50} je između 3 i 100 mg/kg kod miševa i štakora. Elemente rijetkih zemalja ljudi zapravo najviše unose inhalacijom prašine na radnim mjestima (rudnici, proizvodnja), upotrebom prehrambenih proizvoda koji sadrže elemente rijetkih zemalja te medicinskom upotrebom. Također je zanimljivo i spomenuti da su povišene koncentracije cerija, praseodimija i samarija, koje se povezuju s upotrebom dizelskog goriva, izmjerene uz autoceste. Prekomjernom inhalacijom može nastati plućna fibroza. U jetrima može nastati povišenje jetrenih enzima, te u istraživanjima na miševima i štakorima je došlo do masne promjene jetre. Hipertrofija, retikuloendotelna hiperplazija i hiperaktivnost limfnih čvorova može nastati uslijed trovanja slezene. Krvarenje u želudcu, nekroza, te infiltracija neutrofila može nastati nakon oralne primjene. Aplikacija spojeva s gadolinijem u subarahnoidalni prostor doveli su do ispadanja određenih motoričkih funkcija. Većina studija daje negativne rezultate kod oralne primjene na genotoksičnost, karcinogenost i teratogenost. Preporučena koncentracija u vodi za piće je 2μg/L. Elementi rijetkih zemalja imaju zaista višestruke primjene, a koriste se još i u proizvodnji keramike, poluvodiča, magneta, reagensa za kontrast magnetske rezonance (MRI), gnojiva, vojnoj industriji [4]. Elementi kao što su gadolinij, neodimij i samarij se koriste za proizvodnju TV i PC zaslona, računalnih čipova, magneta. Rastuća uporaba elemenata rijetkih zemalja u proizvodnji dovela je do povećane izloženosti ljudi, morskih voda, slatkovodne vode, onečišćenja tla prema gdje se detaljno opisuje utjecaj elemenata rijetkih zemalja na poljoprivredu i okoliš [7]. Elementi rijetkih zemalja mogu imati negativan utjecaj na ljudski organizam, uključujući središnji i periferni živčani sustav, dišni sustav, hematološki

i kardiovaskularni sustav. Ovi elementi najviše ulaze u organizam ljudi i životinja kroz hranu, vodu, zrak i tlo. Dok su za neke elemente (arsen, kadmij, olovo i živa-WHO-2011) propisane maksimalno dozvoljene koncentracije ali i česte kontrole njihovih koncentracija u okolišu, za mnoge druge elemente uključujući i elemente rijetkih zemalja takve obveze ne postoje. Istraživanja koncentracija elemenata rijetkih zemalja provedena u Japanu u serumu nekoliko zdravih ispitanika mlađe dobi pokazala su da su njihove koncentracije izrazito niske ($8,2 \times 10^{-4}$ do 0,214 $\mu g\ L^{-1}$) [4]. Koncentracije elemenata rijetkih zemalja u serumu 12 zdravih ispitanika mlađe dobi sa područja Švedske pokazala su nešto više koncentracije elemenata rijetkih zemalja u serumu (0,15 -0,77 $\mu g\ L^{-1}$) [3]. Djeca su posebno ranjiva na učinke tih kemikalija. Istraživanja provedena u Rumunjskoj pokazala su da je najveća koncentracija elemenata rijetkih zemalja bila u serumu djece mlađe od 6 godina, iako su se ostali klinički parametri krvi nalazili u fiziološkim granicama [6].

Pored istraživanja i procjene koncentracije elemenata rijetkih zemalja u Rumunjskoj, ovo je prvo sustavno istraživanje zabilježeno u Republici Hrvatskoj. Tema ovog rada je procjena koncentracije dvanaest elemenata lantanida u uzorcima seruma 357 ispitanika sa područja Istočne Slavonije. Analiza uzoraka vršena je metodom ICP-MS, a uzorkovanja su vršena u tri sela (Vladislavci, Dalj, Čepin) i dva grada (Našice i Osijek).

1.1.Otkriće elemenata rijetkih zemalja

Prvi takav otkriveni element jest iterbij zaslugom Šveđanina Karla Axela Arrheniusa krajem 18. stoljeća. U to vrijeme jedina dostupnost metoda analiziranja ruda u kojima se elementi rijetkih zemalja pojavljuju bila je frakcijska kristalizacija koju su slijedile brojne rekristalizacije, što nije bio dovoljno pouzdan način upoznavanja elementa i njegovih svojstava pa je ta skupina elementa ostavljala znanstvenicima mnoga neodgovorena pitanja . Unatoč manjkavim metodama svi su elementi osim prometija uspješno izolirani iz ruda frakcijskom kristalizacijom i frakcijskom precipitacijom do 1907. godine. Prometij je otkriven tek 1947. godine kada je ionskom kromatografijom odvojen od uranija. [2].

1.2. Zastupljenost elemenata rijetkih zemalja u prirodi

Unatoč imenu elementi rijetkih zemalja nisu rijetki u prirodi. Najzastupljeniji su cerij i iterbij. Tulij je najmanje zastupljen, ali je njegova prisutnost još uvijek veća od mnogih poznatijih elemenata poput joda ili platine.

Tablica 1. Prosječna zastupljenost elemenata rijetkih zemalja u zemljinoj kori prema Evansu, (1990) u ppm.

Lantan	18,0
Cerij	46,0
Prasedomij	5,5
Neodimij	24,0
Prometij	-
Samarij	6,5
Europij	1,1
Gadolinij	6,4
Terbij	0,9
Disprozij	4,5
Holmij	1,2
Erbij	2,5
Tulij	0,2
Iterbij	2,7
Lutecij	0,8
Itirij	28,0
Skandij	-

1.3. Kemijska svojstva i spojevi elemenata rijetkih zemalja

Za razumijevanje kemije elemenata rijetkih zemalja važna je njihova elektronska konfiguracija na unutrašnjoj *4f* orbitali. Lantanidi se najčešće pojavljuju u +3 oksidacijskom stanju što znači da su vrlo elektropozitivni i u prirodi tvore ionske spojeve [

2]. Prisutni su i slučajevi kada su elementi cerij i europij prisutni u četverovalentnom odnosno dvovalentnom stanju, ali trovalentni elementi su najstabilniji. Veličina atoma, tj. njegov atomski radijus ovisi o naboju jezgre, ali za lantanide je karakterističan paradoksalan fenomen poznat kao lantanidska kontrakcija koja se odnosi na povećanje ionskog radijusa povećanjem atomskog broja. To je posljedica činjenica da unutrašnja *4f* orbitala ne može kompenzirati naboj jezgre. Tako se pozitivan naboj jezgre proteže na cijeli elektronski oblak koji se posljedično smanjuje. Metali rijetkih zemalja ne pokazuju sklonost kovalentnom vezanju iako elektron prisutan u *d* orbitali malo povećava mogućnost za nastajanje kovalentnih spojeva [2]. U vodi ioni oni privlače molekule vode stvarajući oko njih omotač. Najstabilniji spojevi koje elementi rijetkih zemalja grade su oksidi. Opća im je formula Re_2O_3. Mnogi od tih spojeva imaju široku industrijsku primjenu. Mogu biti sintetizirani izravno ili pirolizom sa oksalatima i karboksilatima. Za sintezu nitrata i sulfata potrebne su vrlo visoke temperature. Trihalogenidi lantanida nastaju izravnom sintezom, dok je jedina iznimka cerij koji s fluorom daje tetrafluoride. Oksidi nastaju zagrijavanjem lantanida na zraku ili zagrijavanjem hidroksida (dehidratacija). Pri toj reakciji cerij je iznimka jer s kisikom daje CeO_2. Hidroksidi su netopljivi u vodi, dok bazičnost opada od lantana do lutecija, dok hidroksidi iterbija pokazuju kiseli karakter. Od ostalih spojeva topljivi su nitrati, perklorati i acetati, a netopljivi su oksalati, karbonati i fosfati [2].

1.4. Primjena elemenata rijetkih zemalja

Važnu primjenu metali rijetkih zemalja imaju u geologiji. Kako se vremenom dolazi do smanjenja nekog od tih elemenata dok se istovremeno povećava koncentracija drugog, geolozi mogu pretpostaviti mehanizme nastajanja magmatskih, sedimentnih i metamorfnih stijena. Neki od izotopa posebice cerija i lutecija korisni su za određivanje starosti stijena. U oceanima su prisutni u vrlo malim koncentracijama, a njihova prisutnost u morskim stijenama može služiti za predviđanje miješanja oceanskih voda. U novije vrijeme njihova se uporaba i raznvrsnost industrija u kojima se pojavljuju značajno povećala. Posebice je to uočljivo u tehnologijama kojima je cilj smanjiti uporabu ugljika. Lantan se koristi pri izradi lasera, flourescentnih materijala, optičkih uređaja i kao katalizator. Cerij se koristi

pri proizvodnji upaljača i magneta, kao katalizator ali i kod izrade stakla. Praseodomij se koristi pri izradi trajnih magneta i kao dodatak staklima i keramici. Neodimij ima istu primjenu kao prasedomij i koristi se za infracrvene filtere. Prometij, koji je radioaktivan, koristi se u izradi baterija na nuklearni pogon te se primjenjuje u svemirskoj industriji. Samarij se koristi za kontrolu nuklearnih reaktora i kao mikrovalni filter. Europij se koristi za izradu katodnih cijevi i pri proizvodnji plazma televizijskih ekrana. Gadolinij se koristi za izradu kompjuterskih čipova i magneta. Terbij i disprozij nalaze primjenu u magneto-optičkim materijalima, a holmij se koristi za lasere kao i erbij. Tulij se upotrebljava u proizvodnji rendgenskih uređaja, a lutecij za punjive baterije, skandij za izradu katodnih cijevi, lasere i flourescentne materijale. Iako ranije nisu imali primjenu u medicini, tijekom dvadesetog stoljeća elementi rijetkih zemalja su se primjenivali u pokušajima liječenja karcinoma i kao antikoagulacijska sredstva, ali su zamijenjeni kvalitetnijim i manje toksičnim lijekovima.

1.5. Utjecaj elemenata rijetkih zemalja na ljudsko zdravlje

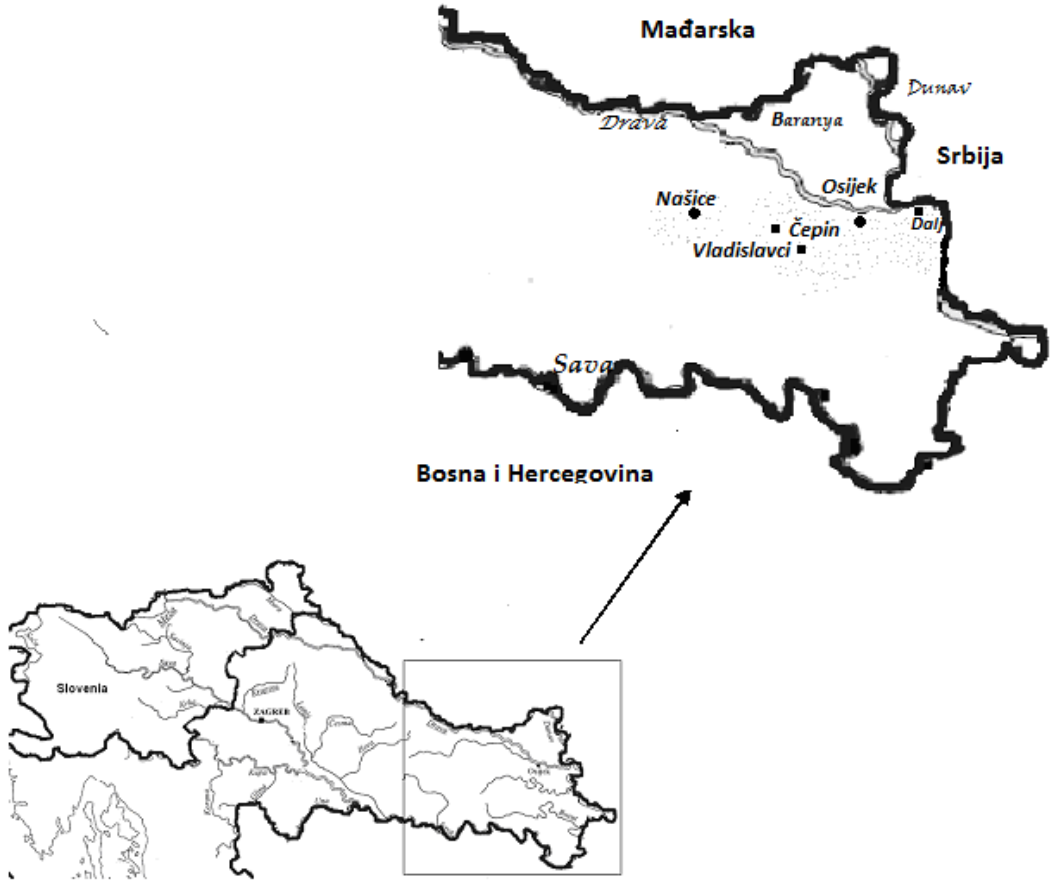
Nije u potpunosti istraženo na koje sve načine elementi rijetkih zemalja djeluju na ljudsko zdravlje, ali je poznato da su veće koncentracije toksične (npr. uslijed akumulacije tih elemenata zbog dugotrajne izloženosti u rudnicima). U Bukit Merah, gdje se nalazi rafinerija metala rijetkih zemalja, zabilježen je slučaj naglog porasta obolijevanja od leukemije, no istraživanja nikada nisu potvrdila da su dvije činjenice u toj uzročno-posljedičnoj vezi. Također je u tom području došlo do masovnog zatajenja bubrega zbog nemogućnosti izlučivanja štetnih metala iz ljudskog organizma, te su se naglo povećale potrebe za transplantacijama bubrega. Osim toga došlo je do pojave različitih oboljenja povezanih sa imunitetom i drugim vrstama trovanjima kao i pojavom žutice zbog nemogućnosti obrane organizma od prevelike koncentracije elemenata rijetkih zemalja u organizmu [5].

2. Ispitanici i metode

2.1. Ispitanici i geografske značajke ispitivanog područja

Ispitivana područja su pet nasumično odabranih mjesta u Istočnoj Hrvatskoj, svih pet mjesta se nalaze u istoj županiji osječko-baranjskoj, a to su Vladislavci, Dalj, Čepin, Našice i Osijek. Ova regija zauzima gotovo više od petine kopnene površine cijele Hrvatske (12 466 km^2 ili 22%). Reljef je uglavnom nizinski. Istočna Slavonija je dio Panonske nizine koja se osim u istočnoj Hrvatskoj, proteže do južne Mađarske i sjeverne Srbije (Vojvodine). Zemlja je crljenica (humus), vrlo je plodna za uzgoj različitih biljnih vrsta. Glavna rijeka je Drava u koju se u tom području ulijevaju rijeke Karašica, Vuka i Vučica. Ispitanici u navedenim mjestima su bili 357 punoljetne osobe naseljene na istraživanom području. Sa svakim ispitanikom proveden je intervju s ciljanom anketom o osnovnim demografskim pokazateljima i navikama ispitanika kao i mogućim izloženostima metalima i metaloidima u predratnom, ratnom poratnom i razdoblju. Zabilježeni su spol, dob i mjesto stanovanja, kao i navike vezane za pušenje, konzumaciju alkohola i vrsti vode koju koriste za piće. Zabilježeni su i mogući mehanizmi nastanka opterećenja metalima, domicilna izloženost (stanovanje u blizini mogućih izvora

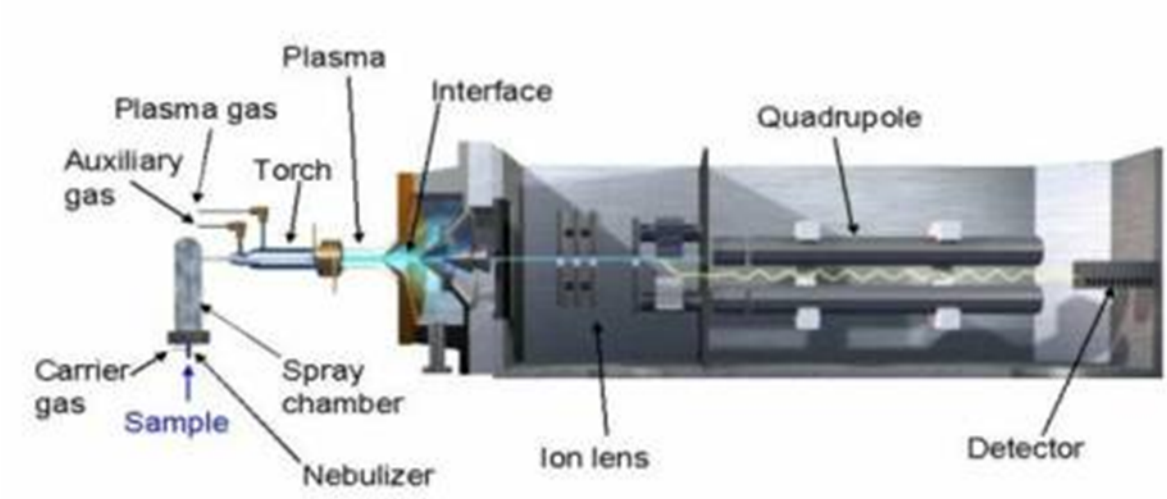
opterećenja), moguća profesionalna izloženost metalima, pesticidima i fosilnim gorivima, kao i sudjelovanju u ratu.



Slika 2. Karta mjesta u istočnoj Hrvatskoj gdje su se uzorci sakupljali

2.2. Metoda (ICP-MS)

Korištena metoda za procjenu elemenata je metoda masene spektrometrije induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS) Metoda se temelji se na atomizaciji i ionizaciji uzorka u plazmi visoke temperature. Uređaj se sastoji od sustava za uvođenje uzorka, sučelja sa dva otvora, plazme argona, serije leća, kvadrupolskog masenog spektrometra, te detektora koji je povezan sa računalom. Uzorak je najčešće u tekućem obliku koji se pumpa kroz sustav za uvođenje uzorka gdje prelazi u aerosol, a potom putuje kroz plazmu argona (10000K). Plazma argona nastaje djelovanjem jakog magnetskog polja na tangencijalni protok plina argona. Plin se ionizira i izložen je izvoru elektrona pri čemu nastaje plazma temperature 10000K. Plazma argona se nalazi u vodoravnoj cijevi i služi za stvaranje iona, a ne fotona. Uzorak koji pri atmosferskom tlaku putuje plzmom suši se, isparava te na kraju atomizira i ionizira. Kada uzorak dođe do tzv. analitičke plazme (6000-7000K) uzorak se sastoji od iona važnih za analizu. Takvi ioni prolaze kroz sustav leća gdje su usmjereni i odvojeni od ostalih čestica i fotona. Dolaze do kvadrupolskog spektrometra gdje su odvojeni na temelju mase. Svaki element ima barem jedan izotop koji ima jedinstvenu masu te na temelju te jedinstvene mase se mogu raditi kvalitativne i kvantitativne analize. Ova metoda omogućuje određivanje vrlo male količine određenog elementa.



Slika 2. Shematski prikaz uređaja

Analize su rađene u okviru znanstvenog projekta "Istraživanje dugotrajnih posljedica ratnih zbivanja na zdravlje stanovništva" Medicinskog fakulteta u Osijeku.

2.3. Obrada podataka

Rezultati dobiveni analizama obrađeni su metodama osnovne statistike, primijenjen je neparametrijski Kruskal-Wallis test, a na podatke je primijenjena i metoda klaster analize [9] [10]. Korišteni su programi Excel i Statistica.

3. Rezultati

3.1. Rezultati osnovne statistike i Kruskal −Wallis testa

U tablicama 2-6 prikazani su rezultati statističke obrade koncentracija analiziranih elemenata: Ce, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Nd, Pr, Sm, Tm i Yb određenih u serumu 357 ispitanika sa područja Istočne Slavonije.

Tablica br.2 Rezultati osnovne statistike koncentracija 12 odabranih elemenata u serumu na području Vladislavaca.

Vladislavci (μg L^{-1})					
Elementi	N	Medijan	Percentili 25%	Percentili 75%	Lit.vrijednosti prema[3] [4] [6] μg L^{-1}
Ce	68	0,00	0,00	0,047	0,013-0,77
Dy	68	0,00	0,00	0,000	0,0007-0,038
Er	68	0,00	0,00	0,000	0,0004-0,12
Eu	68	0,00	0,00	0,000	0,0005-0,035
Gd	68	0,00	0,00	0,012	0,0006-0,051
Ho	68	0,00	0,00	0,000	0,0004-0,033
La	68	0,00	0,00	0,021	0,002-0,36
Nd	68	0,00	0,00	0,043	0,005-0,30
Pr	68	0,00	0,00	0,010	0,0022-0,04
Sm	68	0,00	0,00	0,010	0,0005-0,045
Tm	68	0,00	0,00	0,000	0,0002-0,032
Yb	68	0,00	0,00	0,000	0,0006-0,0132

Vrijednosti medijana za sve istraživane elemente na području Vladislavaca bile su ispod granice detekcije instrumenta. Vrijednosti 75 % percentila nalazile su se većinom u rasponu vrijednosti pronađenih u literaturi.

Tablica br.3 Rezultati osnovne statistike za koncentracije 12 odabranih elemenata u serumu na području Dalja.

Dalj ($\mu g\ L^{-1}$)					
Elementi	N	Medijan	Percentili 25%	Percentili 75%	Lit.vrijednosti prema[3] [4] [6] $\mu g\ L^{-1}$
Ce	100	0,039	0,00	0,420	0,013-0,77
Dy	100	0,000	0,00	0,041	0,0007-0,038
Er	100	0,000	0,00	0,000	0,0004-0,12
Eu	100	0,000	0,00	0,049	0,0005-0,035
Gd	100	0,000	0,00	0,000	0,0006-0,051
Ho	100	0,000	0,00	0,031	0,0004-0,033
La	100	0,000	0,00	0,000	0,002-0,36
Nd	100	0,000	0,00	0,187	0,005-0,30
Pr	100	0,011	0,00	0,143	0,0022-0,04
Sm	100	0,000	0,00	0,062	0,0005-0,045
Tm	100	0,000	0,00	0,000	0,0002-0,032
Yb	100	0,000	0,00	0,000	0,0006-0,0132

Vrijednosti medijana za sve istraživane elemente na području Dalja nalazile su se unutar literaturnih vrijednosti. Također i većina vrijednosti 75 % percentila (osim Pr) nalazile su se većinom u rasponu vrijednosti pronađenih u literaturi.

Tablica br.4 Rezultati osnovne statistike za koncentracije 12 odabranih elemenata u serumu na području Čepina.

..Čepin (μg L^{-1})					
Elementi	N	Medijan	Percentili 25%	Percentili 75%	Lit. Vrijednosti prema[3] [4] [6] μg L^{-1}
Ce	50	0,034	0,00	0,340	0,013-0,77
Dy	50	0,010	0,00	0,041	0,0007-0,038
Er	50	0,000	0,00	0,026	0,0004-0,12
Eu	50	0,000	0,00	0,029	0,0005-0,035
Gd	50	0,000	0,00	0,042	0,0006-0,051
Ho	50	0,000	0,00	0,000	0,0004-0,033
La	50	0,041	0,00	0,141	0,002-0,36
Nd	50	0,061	0,00	0,098	0,005-0,30
Pr	50	0,000	0,00	0,040	0,0022-0,04
Sm	50	0,000	0,00	0,045	0,0005-0,045
Tm	50	0,000	0,00	0,000	0,0002-0,032
Yb	50	0,000	0,00	0,000	0,0006-0,0132

Vrijednosti medijana za sve istraživane elemente na području Čepina bile su unutar vrijednosti pronađenih u literaturi. Jednako vrijedi i za vrijednosti 75 % percentila.

Tablica br. 5 Rezultati osnovne statistike za koncentracije 12 odabranih elemenata u serumu na području Našica.

Našice ($\mu g\ L^{-1}$)					
Elementi	N	Medijan	Percentili 25%	Percentili 75%	Lit. vrijednosti prema[3] [4] [6] $\mu g\ L^{-1}$
Ce	77	0,051	0,00	0,192	0,013-0,77
Dy	77	0,000	0,00	0,084	0,0007-0,038
Er	77	0,000	0,00	0,042	0,0004-0,12
Eu	77	0,000	0,00	0,000	0,0005-0,035
Gd	77	0,000	0,00	0,068	0,0006-0,051
Ho	77	0,000	0,00	0,000	0,0004-0,033
La	77	0,042	0,00	0,168	0,002-0,36
Nd	77	0,000	0,00	0,105	0,005-0,30
Pr	77	0,011	0,00	0,197	0,0022-0,04
Sm	77	0,000	0,00	0,042	0,0005-0,045
Tm	77	0,000	0,00	0,042	0,0002-0,032
Yb	77	0,000	0,00	0,000	0,0006-0,0132

.

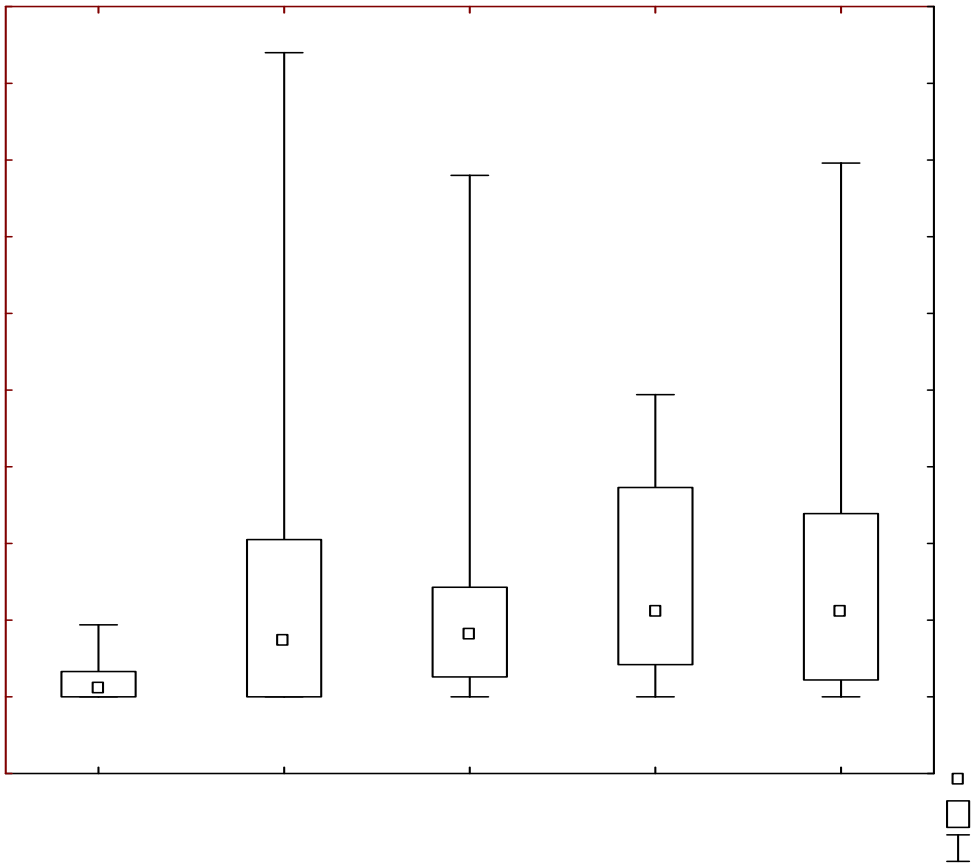
Vrijednosti medijana za sve istraživane elemente na području Našica bile su unutar vrijednosti pronađenih u literaturi. Vrijednosti 75-tog percentila za sve elemente osim Pr također su se nalazile u rasponu literaturnih vrijednosti.

Tablica br. 6. Rezultati osnovne statistike za koncentracije 12 odabranih elemenata u serumu na području Osijeka.

Osijek (μg L^{-1})					
Elementi	N	Medijan	Percentili 25%	Percentili 75%	Lit. vrijednosti prema [3] [4] [6] μg L^{-1}
Ce	62	0,189	0,00	0,348	0,013-0,77
Dy	62	0,033	0,00	0,057	0,0007-0,038
Er	62	0,000	0,00	0,022	0,0004-0,12
Eu	62	0,000	0,00	0,026	0,0005-0,035
Gd	62	0,000	0,00	0,069	0,0006-0,051
Ho	62	0,000	0,00	0,000	0,0004-0,033
La	62	0,105	0,00	0,267	0,002-0,36
Nd	62	0,075	0,00	0,168	0,005-0,30
Pr	62	0,000	0,00	0,055	0,0022-0,04
Sm	62	0,034	0,00	0,071	0,0005-0,045
Tm	62	0,000	0,00	0,000	0,0002-0,032
Yb	62	0,000	0,00	0,000	0,0006-0,0132

Vrijednosti medijana kao i vrijednosti 75 % percentila za većinu istraživanih elemenata na području Osijeka bile su unutar vrijednosti pronađenih u literaturi.

Razlika među istraživanim lokacijama istraživana je Kruskal-Wallis testom budući da većina analiziranih varijabli (koncentracije elemenata) ne slijede normalnu raspodjelu. Nisu pronađene statistički značajne razlike između 75 % percentila koncentracija 12 elemenata u serumu ispitanika prikupljenih na 5 lokacija (p=0,0969) (Slika br. 3).

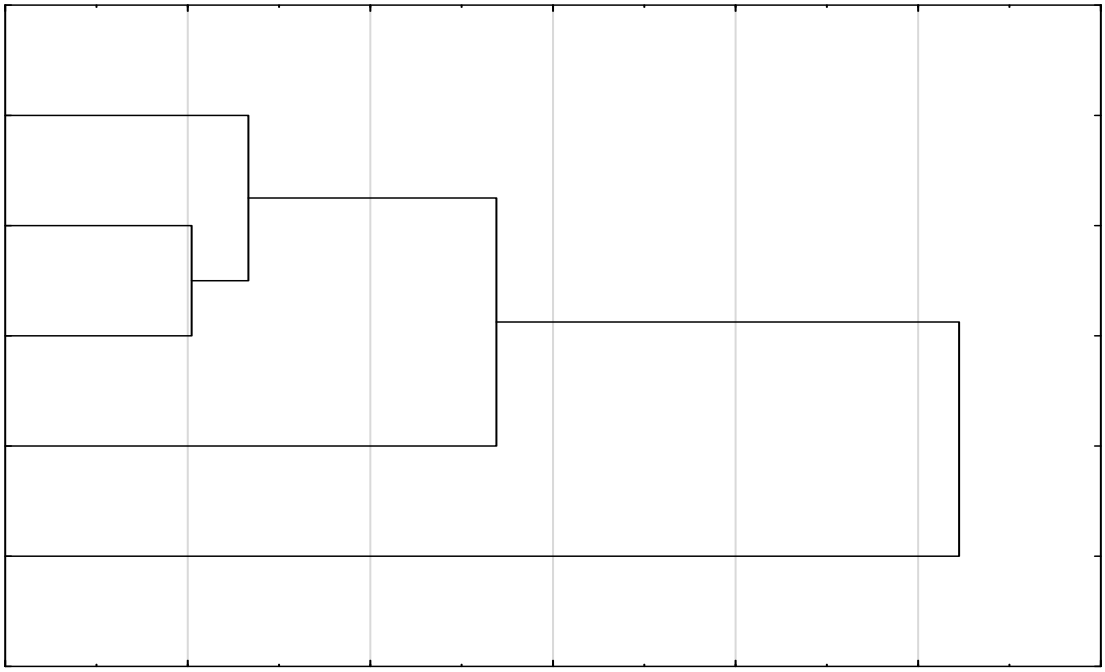


Slika br. 3 Rezultati Kruskal- Wallis testa.

3.2. Klaster analiza-rezultati

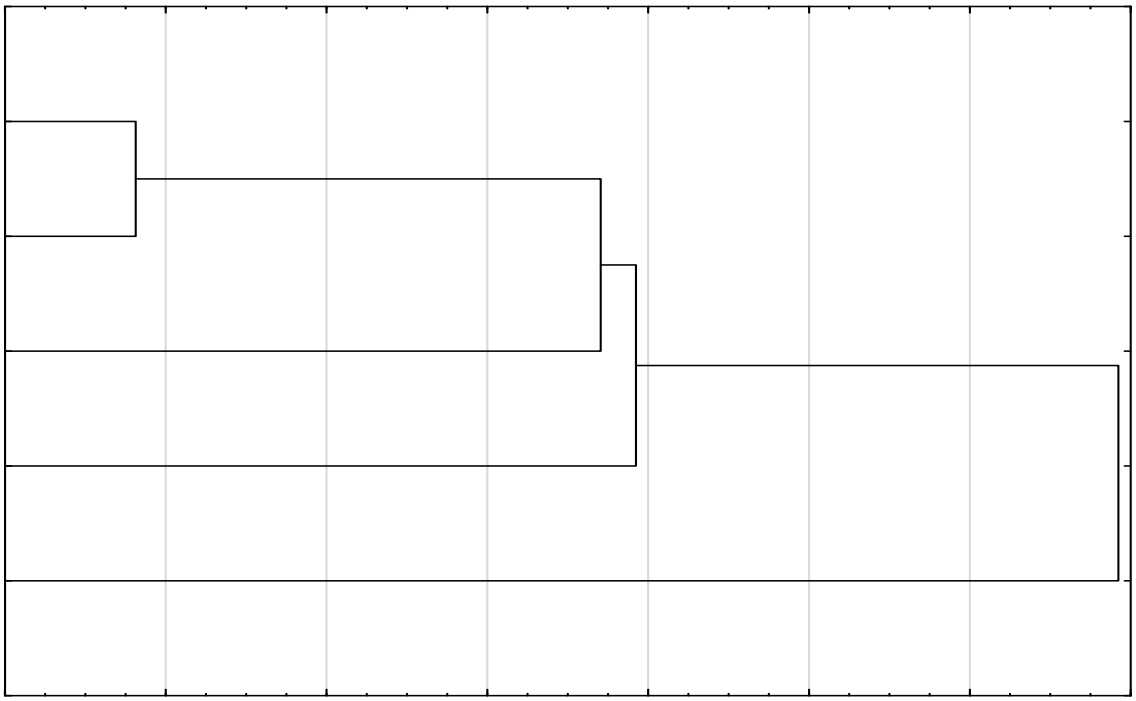
Na dobivene podatke primijenili smo jednu od najpoznatijih multivarijantnih metoda, metodu klaster analize. Metodom klaster analize pokušali smo pronaći sličnosti/različitosti među istraživanim lokacijama. Klaster analiza je multivarijantna metoda obrade podataka za utvrđivanje relativno homogenih grupa objekata. Termin klaster dolazi od engleske riječi "*cluster"* što znači skupina istovrsnih stvari, grozd, skupiti u hrpu. Koristi se u različitim granama znanosti za kategorizaciju odnosno klasifikaciju podataka s obzirom na njihovu sličnost odnosno različitost. U klaster analizi grupna pripadnost objekata nije poznata, kao ni konačni broj grupa. Cilj klaster analize jest utvrđivanje homogenih grupa ili klastera. Više o klaster analizi moguće je pronaći u literaturi [9] [10].

Rezultati klaster analize prikazani su na slikama 3-14.



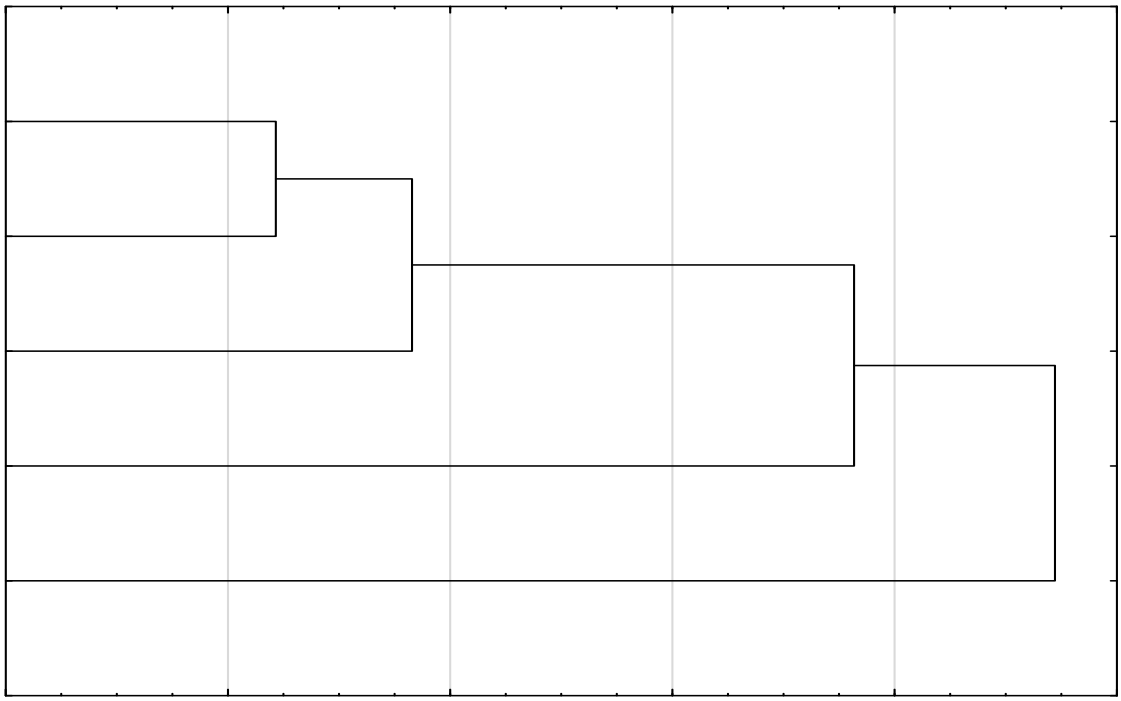
Slika br. 3. Grafički prikaz klaster analize (dendrogram) za koncentracije Ce u serumu ispitanika na pet istraživanih lokacija.

Na slici broj 3. je prikazan rezultat klaster analize dobiven na podatkovnoj matrici u kojoj su se nalazile koncentracije cerija u serumu. Na slici su vidljiva dva osnovna klastera, prvi jednočlani (Dalj), a drugi četveročlani sastavljen je od preostalih lokacija.



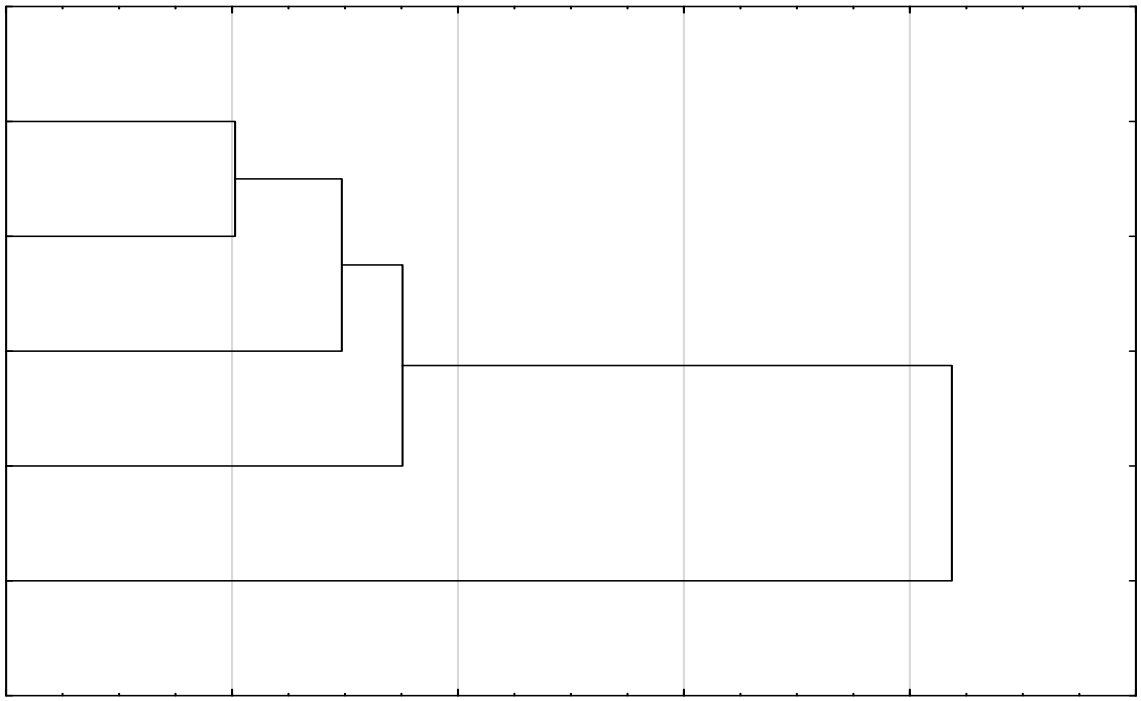
Slika br. 4. Grafički prikaz klaster analize za koncentracije Dy u serumu ispitanika na pet istraživanih lokacija.

Na slici broj 4. je prikazan rezultat klaster analize dobiven na podatkovnoj matrici u kojoj su se nalazile koncentracije disprozija u serumu. Na slici su vidljiva dva osnovna klastera, prvi je jednočlani (Dalj), a drugi kompleksni klaster sastavljen je od preostale 4 lokacije.



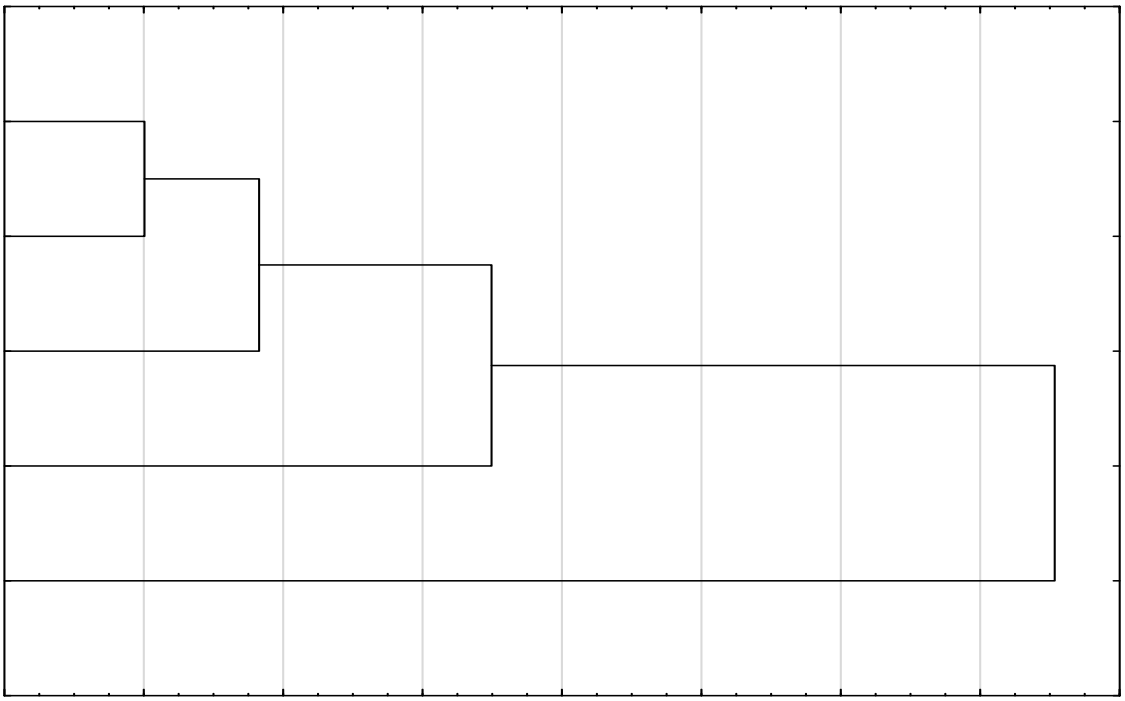
Slika br. 5. Grafički prikaz klaster analize za koncentracije Eu u serumu ispitanika na pet istraživanih lokacija.

Na slici broj 5. prikazan je rezultat klaster analize dobiven na podatkovnoj matrici u kojoj su se nalazile koncentracije europija u serumu. Moguće je razlikovati dva osnovna klastera . Prvi jednočlani (Dalj), a drugi četveročlani sastavljen je od preostalih lokacija.



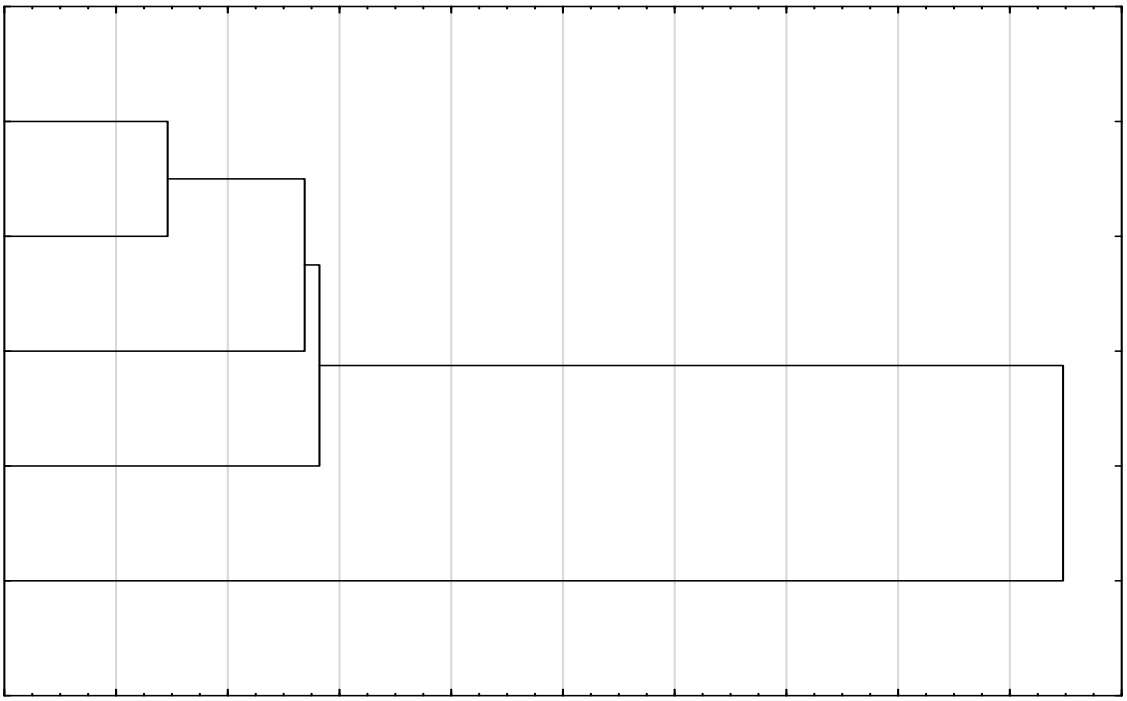
Slika br. 6. Grafički prikaz klaster analize za koncentracije Er u serumu ispitanika na pet istraživanih lokacija.

Na slici broj 6. je prikazan rezultat klaster analize dobiven na podatkovnoj matrici u kojoj su se nalazile koncentracije erbija u serumu. Slično prethodnim elementima i ovdje su vidljiva dva osnovna klastera, prvi jednočlani (Dalj), a drugi je četveročlani i sastoji se od preostalih lokacija.



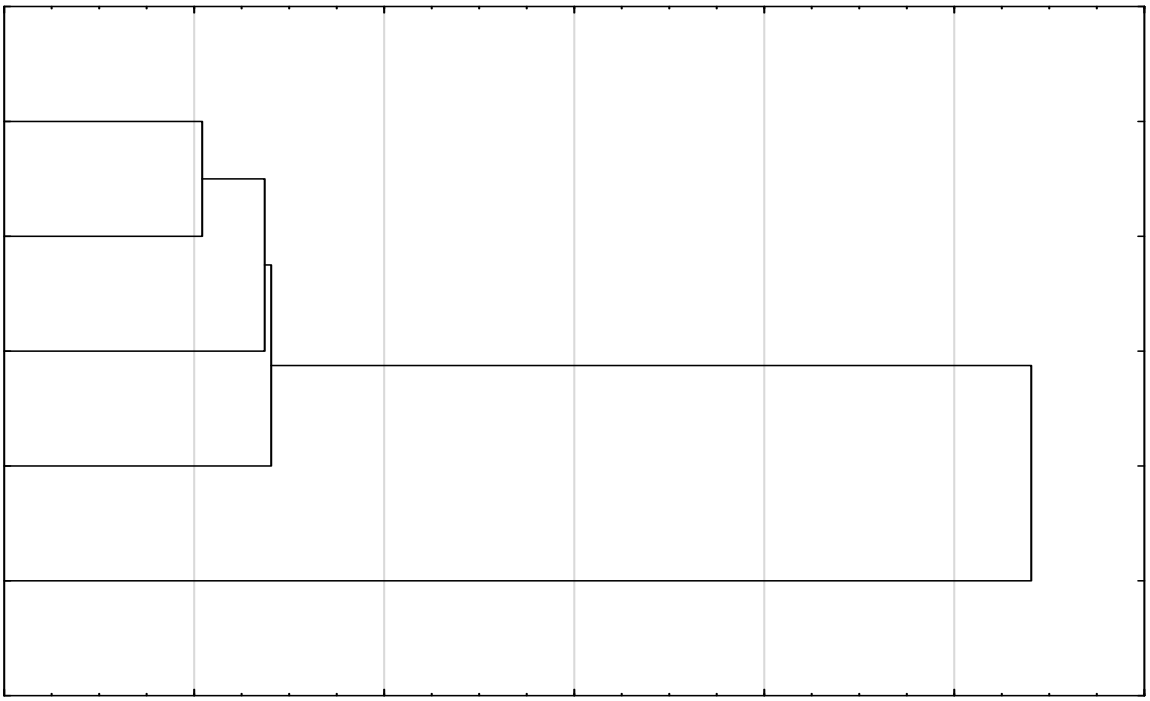
Slika br. 7. Grafički prikaz klaster analize za koncentracije Gd u serumu ispitanika na pet istraživanih lokacija.

Na slici broj 7. prikazan je rezultat klaster analize dobiven na podatkovnoj matrici u kojoj su se nalazile koncentracije gadolinija u serumu. Na slici su vidljiva dva osnovna klastera, prvi je jednočlani (Našice), a drugi, sastavljen od preostalih lokacija je četveročlani.



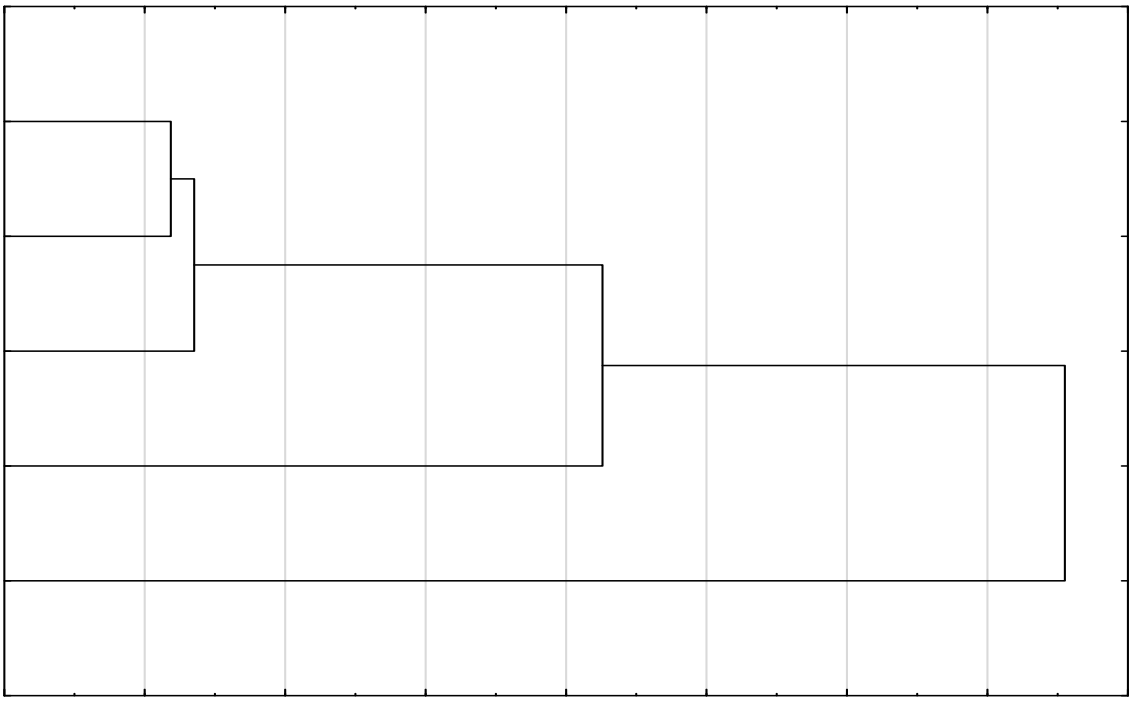
Slika br. 8. Grafički prikaz klaster analize za koncentracije Gd u serumu ispitanika na pet istraživanih lokacija.

Na slici broj 8. je prikazan rezultat klaster analize dobiven na podatkovnoj matrici u kojoj su se nalazile koncentracije holmija u serumu. Na slici su vidljiva dva osnovna klastera, prvi je ponovo jednočlani (Dalj), a drugi je četveročlani i sastavljen je od preostalih lokacija.



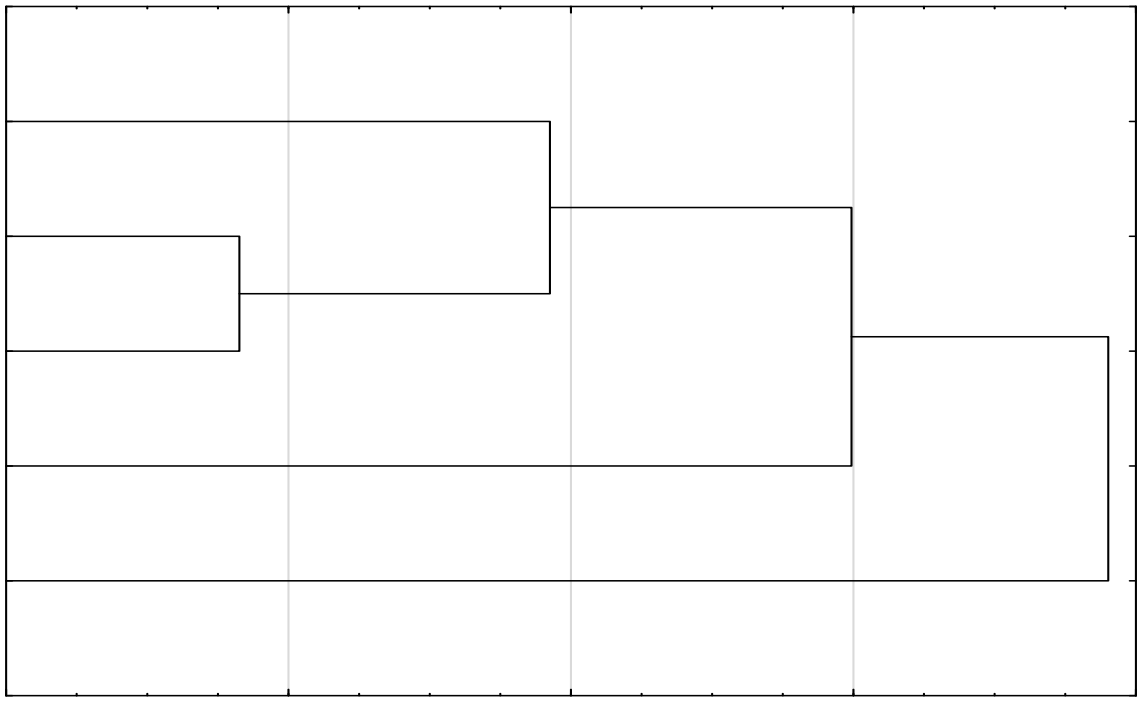
Slika br. 9. Grafički prikaz klaster analize za koncentracije La u serumu ispitanika na pet istraživanih lokacija.

Na slici broj 9. je prikazan rezultat klaster analize dobiven na podatkovnoj matrici u kojoj su se nalazile koncentracije lantana u serumu. Na slici su vidljiva dva osnovna klastera. Prvi jednočlani čini lokacija Čepin, a drugi četveročlani, sastoji se od preostalih lokacija.



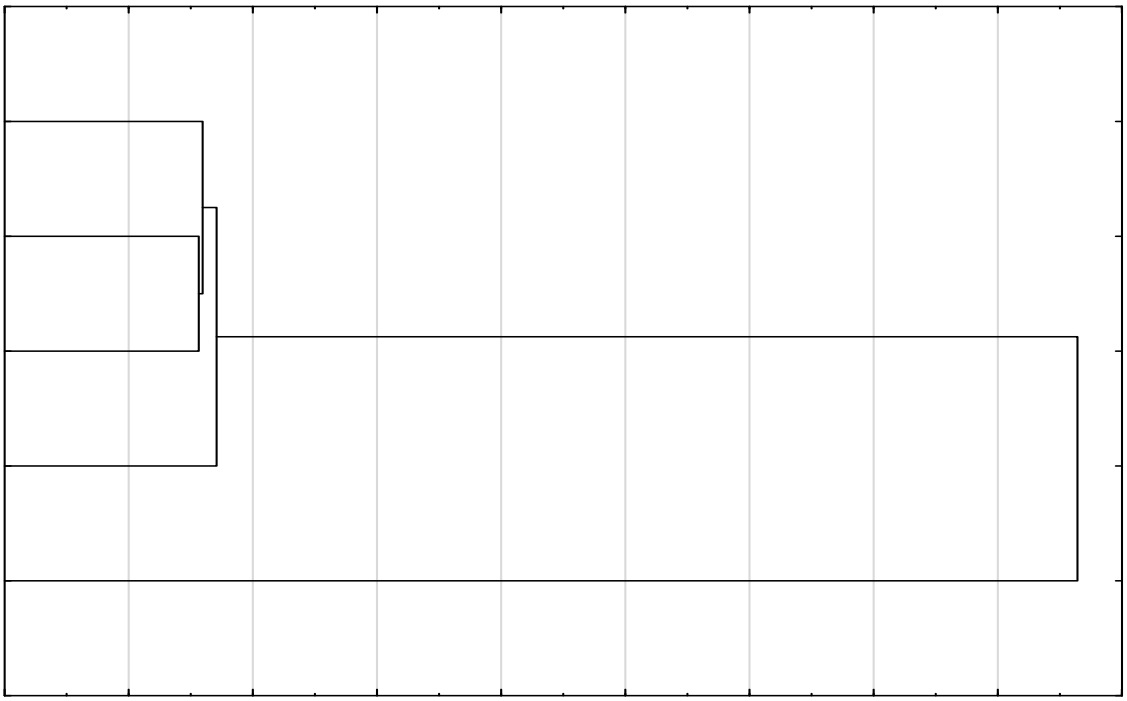
Slika br. 10. Grafički prikaz klaster analize za koncentracije Nd u serumu ispitanika na pet istraživanih lokacija.

Na slici broj 10. prikazan je rezultat klaster analize dobiven na podatkovnoj matrici u kojoj su se nalazile koncentracije neodimija u serumu. Na slici su vidljiva dva osnovna klastera, prvi je jednočlani (Dalj), drugi četveročlani sastoji se od preostalih lokacija.



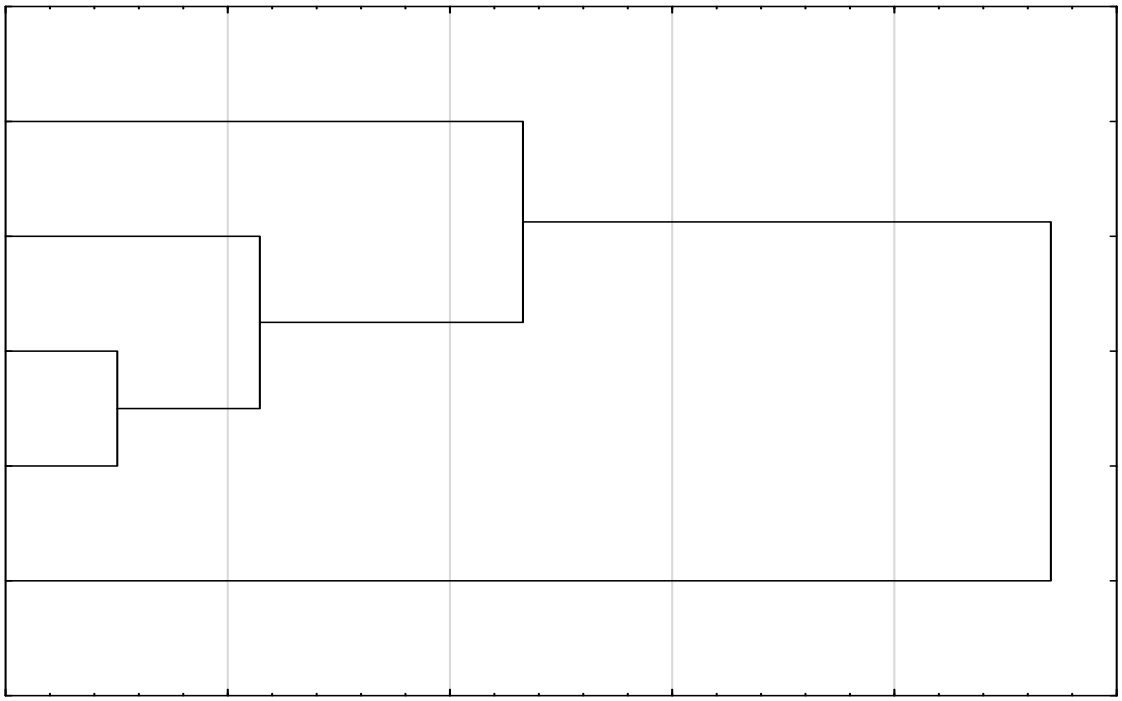
Slika br. 11. Grafički prikaz klaster analize za koncentracije Pr u serumu ispitanika na pet istraživanih lokacija.

Na slici broj 11. prikazan je rezultat klaster analize dobiven na podatkovnoj matrici u kojoj su se nalazile koncentracije prometija u serumu. Na slici su kao i u prethodnim slučajevima vidljiva dva osnovna klastera, prvi jednočlani čini lokacija Dalj, a drugi četveročlani sastoji se od preostalih lokacija.



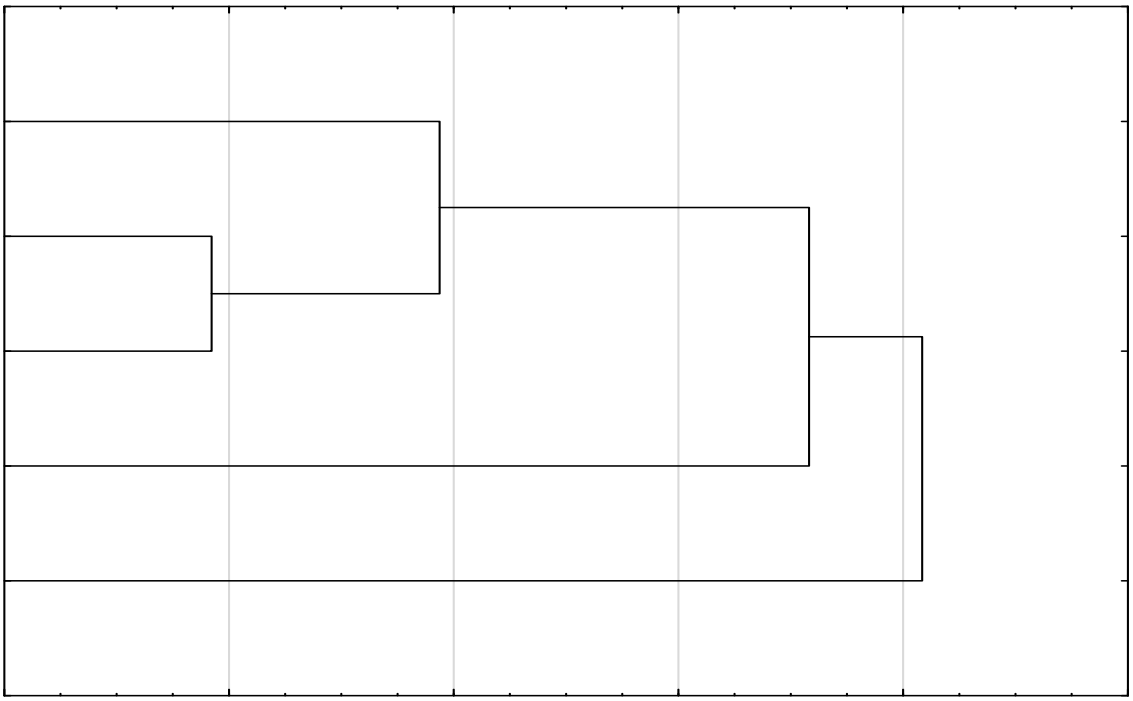
Slika br. 12. Grafički prikaz klaster analize za koncentracije Sm u serumu ispitanika na pet istraživanih lokacija.

Na slici broj 12. je prikazan rezultat klaster analize dobiven na podatkovnoj matrici u kojoj su se nalazile koncentracije samarija u serumu. Na slici su vidljiva dva osnovna klastera. Slično raspodjeli kod La prvi je jednočlani (Čepin), a drugi četveročlani klaster sastavljen je od preostalih lokacija.



Slika br. 13. Grafički prikaz klaster analize za koncentracije Tm u serumu ispitanika na pet istraživanih lokacija

Na slici broj 13. prikazan je rezultat klaster analize dobiven na podatkovnoj matrici u kojoj su se nalazile koncentracije tulija u serumu. Na slici su vidljiva dva zasebna klastera, prvi je jednočlani (Dalj), a drugi četveročlani klaster sastavljen je od preostalih lokacija.



Slika br. 14. Grafički prikaz klaster analize za koncentracije Yb u serumu ispitanika na pet istraživanih lokacija

Na slici broj 14. je prikazan rezultat klaster analize dobiven na podatkovnoj matrici u kojoj su se nalazile koncentracije iterbija u serumu. Na slici su vidljiva dva osnovna klastera, prvi je jednočlani (Našice), a drugi sastavljen od preostalih lokacija, kompleksan je četvoročlani.

4. Rasprava

Jedan od najvećih problema suvremene civilizacije svakako je problem onečišćenja okoliša. Biomonitoring omogućuje realniji uvid u prisutnu količinu kemijskih čimbenika koji su iz okoliša dospjeli u ljudski organizam. Od iznimne je važnosti naglasiti da prisutnost nekog kemijskog čimbenika iz okoliša ne uvjetuje nužno i bolest. Dok o nekim elementima znamo puno, za neke, kao što su elementi rijetkih zemalja je i nadalje otvoren niz pitanja. U procjeni stupnja okolišne izloženosti metalima najčešće se primjenjuju urin, krv, kosa i nokti. Urin i serum pokazuju nedavnu izloženost (24 sata do nekoliko dana), dok kosa i nokti mogu ukazati na dugotrajniju izloženost. U radu u kojem je istraživana prisutnost metala u serumu, urinu i kosi ispitanika izloženih borbenim djelovanjima u Istočnoj Hrvatskoj utvrđena je značajno viša koncentracija Al, As, Ba, P i V u serumu, značajno veće koncentracije As i Cd u urinu, ali i povišene koncentracije Al, Fe, Cd, Pb i V u kosi ispitanika izloženih ratnim djelovanjima [11]. Vrlo su rijetki objavljeni radovi koji obuhvaćaju prisutnost pojedinih metala u prehrambenim namirnicama ili u tlu na području Hrvatske [12][13]). Sustavna istraživanja koncentracija elemenata rijetkih zemalja u biološkim materijalima na području Istočne Hrvatske do ovih istraživanja nisu postojala, a objavljeni su samo radovi koji se odnose na istraživanja koncentracija elemenata rijetkih zemalja u vodi i tlu [14] [15].

U ovome radu analizirani su uzorci seruma ispitanika sa područja tri manja naselja i dva grada Istočne Hrvatske. S obzirom na rezultate osnovne statistike na podatcima koncentracija elemenata: Ce, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Nd, Pr, Sm, Tm i Yb određenih u serumu 357 ispitanika uočeno je da se vrijednosti medijana svih analiziranih elemenata nalaze unutar raspona vrijednosti onih, navedenih u rijetkim literaturnim izvorima rijetkih istraživanja provedenih u svijetu prema [4] [16] [17] [18]. Slično vrijedi i za vrijednosti 75% percentila većine elemenata, sa izuzetkom Pr čije su vrijednosti veće od onih pronađenih u literaturi zabilježene na području Dalja. Klaster analiza je ukazala na izdvajanje mjesta Dalj u slučaju većine analiziranih elemenata: Tm, Pr, Nd, Ho, Er, Eu, Dy i Ce, međutim, nije pokazala jasno grupiranje sela (Dalj, Čepin i Vladislavci) u odnosu na gradove (Našice i Osijek), što je bilo očekivano s obzirom na različitu vrstu vode koja se koristi za piće, izloženost pesticidima, herbicidima , gnojivima, izloženosti metalima , fosilnim gorivima, općenito -životni stil i sl. Kruskal –Wallis test je pokazao određene

razlike u vrijednostima medijana kao i maksimalnim vrijednostima elemenata rijetkih zemalja u serumu ispitanika, međutim , nije pronađena statistički značajna razlika među istraživanim lokacijama (p=0,969). Istočna Hrvatska područje je intenzivnih poljoprivrednih djelatnosti pri čemu se troše velike količine pesticida i gnojiva koje mogu dovesti do onečišćenja tla i voda, a dodatnu prijetnju predstavljaju neadekvatno odloženi komunalni i industrijski otpad. Pored vode za piće, opterećenje stanovništva npr. metalima i metaloidima može biti i posljedica specifičnosti geološkog sastava tla. Manje razlike među lokacijama (koje nisu bile statistički značajne) i nešto više koncentracije elemenata rijetkih zemalja u Dalju nije bilo moguće povezati sa povišenim koncentracijama elemenata rijetkih zemalja u tlu, budući da nije bilo statistički značajne razlike u koncentracijama analiziranih elemenata u uzorcima tla između 5 istraživanih mjesta. Poznato je da su na području Istočne Hrvatske podzemne vode opterećene arsenom, manganom i željezom, međutim vrijednosti koncentracija elemenata rijetkih zemalja određene u ovih pet mjesta bile su u slične onima pronađenim u dosadašnjim istraživanjima na području Hrvatske[16]. Izuzetak su činili uzorci vode Dalja gdje su zabilježene nešto veće maksimalne koncentracije: Ce (0,55 μg L^{-1}), Dy (0,06 μg L^{-1}), Er (0 ,029 μg L^{-1}) , Gd (0,07 μg L^{-1}), La (0,22μg L^{-1}), Lu (0,01 μg L^{-1}) , Nd (0,28 μg L^{-1}), Pr (0, 06 μg L^{-1}) , Sm (0,07 μg L^{-1}) i Yb (0,026 μg L^{-1}) koje su se ujedno i statistički značajno razlikovale od koncentracija tih istih elemenata u preostala 4 mjesta. Iako su vrijednosti koeficijenata korelacije između koncentracija pojedinih elemenata u vodi i serumu bile visoke (čak i do r_p = 0,876) , niti jedna vrijednost koeficijenta korelacije nije bila statistički značajna na nivou p<0,05 stoga nije bilo moguće donijeti zaključak da su povišene koncentracije elemenata rijetkih zemalja u serumu izravno povezane sa većim koncentracijama u vodi. Potrebna su sveobuhvatnija mjerenja, veći broj uzoraka vode ali i ispitanika kako bi se donijeli zaključci i pokazala moguća povezanost koncentracija elemenata rijetkih zemalja u serumu sa koncentracijama tih istih elemenata u vodi koja se koristi za piće.

5. Zaključak

Elementi rijetkih zemalja sve su češći upotrebljavani u novim tehnologijama zbog čega je veća vjerojatnost za neposredan kontakt čovjeka s tim elementima. Zbog toga je važno

istražiti kolike su prihvatljive koncentracije tih elemenata u ljudskom organizmu, na koji način utječu a čovjekovo zdravlje neposredno te kako utječu na okoliš, a time i posredno na ljudski organizam. Rezultati analize mjerenja koncentracija 12 odabranih elemenata rijetkih zemalja u serumu ispitanika sa područja Istočne Hrvatske pokazali su da se vrijednosti medijana koncentracija istraživanih elemenata nalaze unutar vrijednosti koncentracija pronađenih u rijetkim literaturnim radovima autora koji su se ovakvim istraživanjima bavili u drugim zemljama svijeta.

5. Literatura

[1] B. Wen, D. Yuan, X. Shan, F. Li, S. Zhang: The infuence of rare earth element fertilizer application on the distribution and bioaccumulation of rare earth element sin plants under field conditions. Research Centre for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beiling.

[2] I. Filipović, S. Lipanović: Opća i anorganska kemija II. DIO, Kemijski elementi i njihovi spojevi; Školska knjiga: Zagreb, 1995, 945-951.

[3] I. Rodushkin, F. Odman, R. Olofsson, E. Burman and Michael D. Axelsson: Multi-element analysis of body fluids by double-focusing ICP-MS. Recent Res. Devel. Pure & Applied Chem 5(2001): 51-66.

[4] K. Inagaki, H. Haraguchi: Determination of rare earth elements in human bloodserum by inductively coupled plasma mass spectrometry after clevelating resinpreconcentration., Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Furo-cho, Chikusa-ku , Nagoya Japan, 1999, 464-480.

[5] K. Taek, Ho K., Sun J., Toxicological Evaluations of Rare Earths and Their Health Impacts to Workers:A Literature Review; Safety and Health at Work: South Korea, 2013, 16-22.

[6] L. Gamana, C. E. Delia, O. P. Luzardoc, M. Zumbadoc, M. Badead, I. S, Marilena Gilcaa, Luis D. Boadac and Luis. A. Henríquez-Hernández: Serum concentration of toxic metals and rare earth elements in children and adolescent, ISSN: 0960-3123:1369-1619, Faculy of medicine, Bucurest, 2019.

[7] K. Redling: Rare Earth Elements in Agriculture with Emphasis on Animal Husbadry; Veterinarski fakultet Ludwig-Maximilians: MÜnchen, 2006, 66-67.

[8] T. Gray: Elementi-slikovno istraživanje svih poznatih atoma u svemiru; Školska knjiga: Zagreb, 2010, 135-161.

[9] G. M. Vandeginste, D. L. Massart, L. M. C. Buydens, S. de Jong, P. J. Lewi, and J. Smeyers-Verbeke, Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Part A, Elsevier, Amsterdam, 1998.

[10] G. M. Vandeginste, D. L. Massart, L. M. C. Buydens, S. deJong, P. J. Lewi, and J. Smeyers-Verbeke, Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Part B, Elsevier, Amsterdam, 1998.

[11] M. Jergović, M. Mišk ulin, D.Puntarić, R. Gmajnić, J. Milas, L. Šipoš- Cross: Sectional biomonitoring of metals in adult populations in post-war eastern Croatia: differences between areas of moderate and heavy combat. Croat Med J (2010) ; 51(5):451-60.

[12] L. Bijelić; D.Puntarić; V. Gvozdić; D. Vidosavljević; D. Jurić; Z. Lončarić; A. Puntarić; E. Puntarić; M. Vidosavljević; I. Puntarić; A. MűIler; S. Šijanović: Presence of war related elements in dandelion (Taraxacum Officinale) as a possible consequence of military activities in Croatia. // Acta Agriculturae Scandinavica. Section B - Soil and Plant Science. 68 (2018); 264-272.

[13] D. Vidosavljević; D. Puntarić; V. Gvozdić; M. Jergović; M. Mišk ulin; I. Puntarić; E. Puntarić; S. Šijanović: Soil contamination as a possible long term consequence of war in Croatia. Acta Agriculturae Scandinavica. Section B - Soil and Plant Science. 63 (2013), 322-329.

[14] Ž. Fiket, Lj.Rozmaric, M. Krmpotić, M. Benedik: Levels of major and trace elements, including rare earth elements, and 238 U in Croatian tap waters. Environmental Science and Pollution Research (2015). 6789-6799.

[15] Rare earth elements in soil and plant systems - A review Tyler, G. Plant Soil, 2004, 267: 191.

[16] I. Rodushkin, F. Ödman, S. Branth: Multielement analysis of whole blood by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry, Fresenius J. Anal. Chem., 1999,

338-346.

[17] I. Rodushkin, F. Ödman: Application of inductively coupled plasma sector field mass spectrometry for elemental analysis of urine, J. Trace Elem. Med. Biol., 2001, 241-247.

[18] L. Gaman, C. E. Delia, O. P. Luzardo, M. Zumbado, M. Badea, I. Stoian, M. Gilca, L. D. Boada & L. A. Henríquez-Hernández: Serum concentration of toxic metals and rare earth elements in children and adolescent, International Journal of Environmental Health Research, 2019.