

O UTVRĐIVANJU POJAVE OPASNE APSORPCIJE NEKIH
INDUSTRIJSKIH OTOVA¹

Opisani su testovi spomoću kojih se može utvrditi pojava opasne apsorpcije industrijskih otrova: olova, benzola i žive. **Olovo.** Vrlo pouzdan test, da se točno prati, da li su i koliko su radnici izvrgnuti štetnom djelovanju olova — je određivanje količine u urin izlučenog olova. Kako je takav način dugotrajan i skup, to je uza nj opisan i porfirinski test. Svako povećanje apsorpcije olova dovodi do povećanog izlučivanja koproporfirina u urin, pa je stoga pojava porfirinurije siguran znak za pojavu opasne apsorpcije olova. Dokazivanjem koproporfirina na način, koji je autor prije opisao, mogu se utvrditi već i one prve male promjene u količini urinom izlučenog porfirina, do kojih dolazi povećanjem apsorpcije olova. Porfirinski je test sam po sebi i jeftin i jednostavan, a i toliko pouzdan, da se liječnik u procjenjivanju ugroženosti od olova može sa sigurnošću osloniti na njega. — **Benzol.** Odnos između anorganskih i esterskih sulfata izlučenih u urin je ustaljen. Svako povećanje apsorpcije benzola odražuje se u povećanom izlučivanju esterskih sulfata, odnosno u remećenju ustaljenog odnosa između anorganskih i esterskih sulfata izlučenih u urin, pa je prema tome svaki porast esterskih sulfata ujedno i siguran znak za pojavu povećane apsorpcije benzola. Prema tome određivanje odnosa između anorganskih i esterskih sulfata izlučenih u urin na način, koji je u radu opisan, može poslužiti kao pouzdani test za prosuđivanje stupnja ugroženosti radnika izvrgnutih djelovanju benzola. — **Živa.** Konačno je prikazan novi mikrokatalitički način dokazivanja žive u urinu, koji može poslužiti kao pouzdan test za utvrđivanje pojave opasne apsorpcije žive.

Razvojem suvremene tehnike porasla je u pojedinim industrijama i primjena industrijskih otrova, t. j. supstancija, koje po svojim kemijskim svojstvima mogu da ugroze, odnosno naruše zdravlje radnika uposlenih u takvim industrijama.

Industrijski otrovi dolazeći neprestano u dodir s ljudskim organizmom — bilo da se zadrže na samoj površini tijela ili da prođu u optok krvi — mogu izazvati takve patološke promjene, koje ostavljaju trajne i nepopravljive poremećaje radnikova zdravlja.

Stoga je liječniku, kome je povjeren, da očuva zdravlje radnika u takvim industrijama, prva, a ujedno i najvažnija dužnost spriječiti, da u opće ne dođe do oboljenja radnika, t. j. da radnika u pravi čas ukloni iz ugrožene okolice. Da bi to mogao s uspjehom postići, potrebna su mu takva pomagala, koja mu omogućuju, da u svako vrijeme otkrije prve znakove pojave povećane apsorpcije, drugim riječima opasnosti otrovanja.

¹ Prema predavanju održanom na Sastanku sanitarnih kemičara u Opatiji mjeseca svibnja 1950.

U tom teškom poslu, da očuva zdravlje radnika, liječniku su bez sumnje korisno pomagalo razni testovi, jer mu omogućuju, da sa sigurnošću prati, da li je i uolikoj je mjeri radnik ugrožen na svom radnom mjestu. Ti mu testovi omogućuju, da radnika ukloni iz ugrožene okolice još prije nego li i započne oboljenje. Samo se po sebi razumije, da je takav test to vredniji, što se liječnik na nj može s više pouzdanja osloniti u procjenjivanju pojave opasne apsorpcije i što je taj test u izvođenju jednostavniji i jeftiniji.

Vođeni željom, da ti testovi budu što pouzdaniji, jeftiniji i jednostavniji u izvođenju, tako da bi ih moglo vršiti i tehničko osoblje, u našem smo Institutu izradili testove za utvrđivanje pojave opasne apsorpcije olova, benzola i žive, koji udovoljavaju postavljenom cilju. Predmet ove radnje bit će dakle prikaz značajnosti i izvođenja tih testova.

I. TESTOVI ZA UTVRĐIVANJE POJAVE OPASNE APSORPCIJE OLOVA

1. Količina urinom izlučenog olova, kao test za utvrđivanje opasne apsorpcije olova.

Izrazito otrovna svojstva olova, kao i njegova široka primjena ne samo u industriji, nego i u svakidašnjem životu, izlučili su olovo iz ostalih industrijskih otrova i dali mu posebno mjesto u izučavanju profesionalnih oboljenja.

Primjena olova toliko je u toku godina porasla, da je danas teško i zamisliti čovjeka, koji ne bi s njime — bilo u svome poslu, ili u svom privatnom životu — dolazio u dodir.

Ali, na sreću, sama činjenica, da netko svaki dan dolazi u dodir s olovom, ne znači odmah, da je neizbježno izvrgnut i njegovu štetnom djelovanju. Da olovo može štetno djelovati, mora ono prije svega dospjeti u optok krvi, i to u dovoljnoj količini; drugim riječima: njega mora biti u tolikoj količini i ono mora biti raspodijeljeno u takvom obliku, u kakvom ga organizam može dovoljno apsorbirati. Tek u takvim slučajevima možemo govoriti o mogućnosti povećane apsorpcije, što znači o mogućnosti nastupa otrovanja.

Premda olovo nije biogeni element, ipak se ono redovno nalazi u organizmu skoro svakog čovjeka, pa i onog, koji u svom svakidašnjem životu uopće ne dolazi s njime u dodir, odnosno dolazi tek toliko, koliko to zavisi od potreba civiliziranog društva. Te količine olova, koje normalno cirkuliraju u krvi, neznatne su i ne remete normalni tok čovječjeg metabolizma, pa ih stoga i označujemo kao tako reći »normalne« sastavine krvi, odnosno tijela i tjelesnih ekskreta.

Činjenica, da se u 100 ml krvi može normalno naći i do 60 mikrograma olova, odnosno, da čovjek može redovno izlučiti u 24 sata u urin i do 100 mikrograma, a u stolicu do 600 mikrograma olova, jasno svjedoči, da ljudski organizam redovno prima određene količine toga metala.

Izvori, odakle ljudski organizam prima olovo, mnogobrojni su i raznovrsni, kao što su raznovrsni i putevi, koje olovo pronalazi, da proдре u sam organizam.

Da li će olovo, koje je dospjelo u organizam, uopće izazvati otrovanje ili ne će, ne zavisi od količine apsorbiranog, nego od količine u krv dospjelog olova i od vremenskog razdoblja, koje je proteklo, otkako je to povećano prodiranje počelo.

Apsorbirano se olovo naime pretežno izlučuje u urin i u feces, a da organizam pri svom prolazanju kroza nj ni najmanje ne oštećuje. Tek manji dio apsorbiranog olova prijeđe u krv, pa jedino o toj količini cvisi, da li će olovo cirkulirati kao tako reći »normalna« sastavina krvi, ili će prekinuti normalni tok metabolizma, dajući pritom sliku akutnog, odnosno kroničnog otrovanja olovom.

Zahvaljujući napretku zaštitne tehnike, kao i nastojanju industrijskih higijeničara, danas je među radnicima zaposlenim u industrijama olova skoro nestalo akutnih otrovanja olovom, pa uglavnom pretežu kronična otrovanja.

Kronična otrovanja — istina — nisu tako dramatična kao akutna, ali su to opasnija po zdravlje radnika, jer su neizrazita, pa ih je teško na vrijeme dijagnosticirati. Dijagnostika je naime kroničnih otrovanja olovom sama po sebi vrlo složena, pa je po svojoj složenosti u mnogočemu slična mozaiku, u kom je svaki kamičak minuciozno obrađen i postavljen na mjesto, koje je za nj već unaprijed određeno. I kao što nedostatak, odnosno neizrađenost svakog ma i najmanjeg kamena onemogućuje postizavanje cjelovitosti mozaika, isto tako i nedostatak svih, za neko oboljenje potrebnih, pretraga onemogućuje postavljanje ispravne dijagnoze. Upravo u tom teškom poslu postavljanja ispravne dijagnoze može kemičar najviše pomoći liječniku. Da takve pretrage mogu, naime, liječniku korisno poslužiti, moraju biti izvršene s mnogo iskustva i s mnogo minucioznosti. Čini mi se, da nikad nije previše istaknuta potreba preciznosti u radu analitičara, kad se radi o određivanju olova u biološkom materijalu, jer ta određivanja uvijek prati čitava plejada mogućnosti pogrešaka.

Važnost tako minuciozno izvršenih pretraga naročito je istaknuta činjenicom, što slika bolesti ostaje ista, bez obzira na to, je li do disfunkcije došlo djelovanjem olova ili kojih drugih faktora. Tako će na pr. u istoj mjeri oštećeni parenhim jetre davati istu kliničku sliku bolesti bez obzira na to, je li oštećenje izazvano djelovanjem olova, alkohola ili je posljedica preboljelog tifusa, odnosno koje druge zarazne bolesti. Štoviše, i sve one reakcije, koje vršimo kod oboljenja jetre, a koje ukazuju na neki poremećaj sastava serumskih proteina, kao što su na pr. Takata-Ara, Grossova, kadmijeva reakcija, timol-mutež, alkalna fosfataza i t. d. bit će u oba slučaja jednako pozitivne. Takve reakcije ukazuju samo na stupanj oštećenja parenhima jetre, ali nikako i na etiologiju tog oštećenja. Sami točni podaci o stanju metabolita u oboljelom organizmu ne mogu uputiti kliničara na etiologiju oboljenja, niti mu potpuno pomoći kod postavljanja

ispravne dijagnoze, nego on prije svega mora imati i točne podatke o količini sadržanog olova u krvi i likvoru, odnosno u urinu i fecesu.

Pomoć kemičara na području higijene rada ne treba u svom poslu samo kliničar nego — možda još i više — liječnik, kojemu je povjereno, da očuva zdravlje radnika u industriji. Liječnik u industriji ne smije naime dopustiti, da radnik na svom poslu oboli, nego ga čak mora na vrijeme ukloniti iz ugrožene okolice. A da bi to mogao postići, potrebna su mu takva pomagala, koja će mu omogućiti, da u svaki čas procijeni, koliko je radnik ugrožen na svom radnom mjestu, da otkrije prve znakove, koji ga upozoravaju na povećanu apsorpciju olova, drugim riječima na opasnost otrovanja.

Najpouzdanije pomagalo, koje mu za to stoji na raspolaganju, jesu točni podaci o količini u urin izlučenog olova u 24 sata.

Po mišljenju mnogih autora (2) točni su podaci o količini urinom izlučenog olova vrlo pouzdano oruđe pri procjeni, da li su i koliko su radnici u svom poslu izvrgnuti štetnom djelovanju olova. Pouzdanost takvog načina nadziranja povećane apsorpcije naročito je porasla izradom točnih propisa, kako treba sabirati urin, kako treba sabrane uzorke analizirati i dobivene rezultate interpretirati.

Istina, mi možemo i na drugi način nadzirati, da li su radnici ugroženi na svom radnom mjestu, i to određivanjem količine olova u zraku svake pojedine prostorije, odnosno svakog radnog mjesta. Bilo da na jedan ili na drugi način odredimo količinu olova, dobit ćemo pravu sliku o tome, koliko su radnici u svom poslu izvrgnuti djelovanju olova (3). U mnogobrojnim istraživanjima utvrđeno je, da koncentracija olova u zraku ide paralelno s koncentracijom izlučenog olova u urinu. Kao i svaka metoda, tako i te metode imaju i svoje prednosti i svoje nedostatke. No sama priroda tih nedostataka nije takva, da bi učinila bilo koju od ovih metoda manje pouzdanom ili čak neupotrebljivom. Ipak ima slučajeva, da se u urinu pojedinih radnika nađe više olova, nego što bi se moglo očekivati s obzirom na utvrđene količine olova u zraku prostorije, u kojoj taj radnik radi. Uzrok tom neslaganju leži u nedovoljnoj pažnji radnika pri obradi olovnog materijala. Nije naime rijedak slučaj, da dođe do povećane apsorpcije, pa i do otrovanja olovom i u onim tvornicama, u kojima ne postoji opasnost, da nastane povećana apsorpcija s obzirom na sva ona zaštitna sredstva, koja osiguravaju zdravlje radnika. Da u takvim slučajevima dolazi do povećane apsorpcije, pa i do povećanog izlučivanja olova u urin, uzrok je taj, što neki radnici ne vole slijediti date im upute, kako se pri radu treba služiti zaštitnim sredstvima i kako treba održavati ličnu higijenu, kao i njihov čudan običaj, da u ustima drže sitne predmete, zagađene olovom. Kako vidimo, na taj način i radnici, premda su uposleni u dobro zaštićenim industrijama, mogu biti izvrgnuti povećanoj apsorpciji olova, a to se povećanje ne može otkriti mjerenjem količine olova u zraku radnih prostorija. U takvim slučajevima radnici su izvrgnuti — istina — samo blagom, ali zato dugotrajnom djelovanju olova. A upravo pod takvim je

uvjetima djelovanje olova najopasnije po zdravlje radnika. Njihovo se zdravlje može na taj način tako postepeno narušavati, da oni to ni ne osjete, sve dok bolest nije jako uznapredovala.

Stoga mnogi autori smatraju (4), da su točni analitički podaci o nađenim količinama olova u pravilno uzetim uzorcima urina najpouzdanije mjerilo, da li je i koliko je svaki pojedini radnik ugrožen u svojem svakidašnjem poslu. Takav način nadziranja, koliko su radnici ugroženi, ne upozorava nas samo na povećanu apsorpciju, nego nam također registrira i sve promjene, koje su nastale u apsorpciji zbog nepredviđenih faktora, kao što su na pr.: povremeni propusti u mjerama opreza ili nedostaci primjerene lične higijene. Nikad nije potrebno, da radnici gutaju olovo ili njegove spojeve, a oni to ipak čine iz nekih čudnih navika pri pušenju, jelu ili radu. Njihova zaštitna oprema može biti dobra i potpuno ispravna, ali zbog njene loše primjene ipak može doći do naprijed opisanih pojava.

Sve su to razlozi, zbog kojih mnogi autori (5) ističu, da se na te činjenice nikada ne smije zaboraviti, i preporučuju uz određivanje količine olova u zraku radnih prostorija još i paralelno određivanje količine olova izlučenog u urin. Oni priznaju, da je taj način mjerenja težak i da oduzima mnogo vremena, možda se čak čini i preskup za primjenu u mnogim industrijama, ali su takve pretrage veoma korisne za osiguranje radnika u industriji i kod profesija, u kojima je promjenljivo, odnosno, gdje se teško daje nadzirati, koliko su radnici izvrgnuti štetnom djelovanju olova. Koliko se ne bi mogla izvršiti paralelna mjerenja, zagovaraju određivanje olova u urinu.

Ali da bi takav način nadziranja higijenskih prilika u pojedinim industrijama olova bio odista odraz pravog stanja ugroženosti radnika, mora određivanje količine olova u urinu vršiti analitičar, koji će znati da svlada sve prepreke, da mimoide — da tako kažem — »stupice«, koje redovno prate takva određivanja. U protivnom slučaju ta određivanja ne samo da ne daju liječniku pravu sliku ugroženosti povjerenih mu radnika, nego ga čak mogu zavesti na stvaranje krivih zaključaka.

Glavna teškoća takvog određivanja leži nesumnjivo u prevelikoj razlici između opsežnog materijala, koji se analizira, i neznatne količine supstancije, koja se određuje. Uzato još i prisutnost čitavog niza raznih supstancija u istraživanom materijalu otežava izdvajanje olova.

Ovdje bih želio iznijeti naša iskustva o svladavanju prepreka, na koje se neizbježno nailazi, kad se radi o analizi biološkog materijala.

U posljednje je vrijeme (6), istina, objavljen čitav niz novih metoda za određivanje olova u biološkom materijalu, ali se još uvijek i u najnovijoj literaturi susrećemo s radovima, koji se bave tim problemom. Ta činjenica jasno svjedoči, da još uvijek problem određivanja olova u biološkom materijalu nije potpuno riješen. Uzrok tome, čini se, leži u tome, što se u većini ovih radova išlo za tim, kako da se pronađe što lakši i brži, ali ne i što točniji, način određi-

vanja olova u biološkom materijalu, spomoću kojega bi bile odstranjene sve teškoće, koje prate takva određivanja.

Uz prije istaknute teškoće i prisutnost čitavog niza raznih supstancija u količinama, koje po nekoliko puta nadmašuju količinu traženog olova, i prisutnost nekih metala, koji se u malim količinama redovno nalaze u biološkom materijalu, znatno otežava ne samo njegovo izdvajanje, nego i određivanje. Sve su to teškoće, koje još nisu definitivno uklonjene, nego i danas predstavljaju izvore mogućih pogrešaka, odnosno pobuda analitičaru, da se u svojim radovima ponovo vrati na rješavanje toga problema.

Nema sumnje, da su takvi radovi odstranili većinu spomenutih teškoća i pojednostavnili, odnosno skratili dugotrajne operacije pojedinih stadija analize, ali ipak nisu konačno riješili problem određivanja olova u biološkom materijalu.

Ostvarenju tih nastojanja mnogo su pridonijeli pronalazak ditizona i razvitak spektrografije i polarografije. Primjenom tih tekovina suvremene tehnike analitičarima je dana mogućnost ne samo da pojednostavne dotadašnji složeni rad oko određivanja olova, nego i da olovo odrede, pa ma u kako malenim količinama ono bilo sadržano u biološkom materijalu.

Teško je reći, koji od ta tri načina: spektrografski, polarografski ili kolorimetrijski zaslužuje prednost, to više, što sama činjenica, da je neki analitički problem riješen pomoću instrumenta velike osjetljivosti, kao što je na pr. spektrograf ili polarograf, ne pruža nikakvo jamstvo, da su i podaci dobiveni na taj način potpuno pouzdani. U takvim slučajevima jedino jamstvo, da su postignuti rezultati točni, leži uglavnom u spremnosti analitičara. On mora analizirati materijal tako obraditi, da tom obradom isključi svaku moguću pogrešku. Te su mogućnosti to veće, što je instrument osjetljiviji. Zato i rad analitičara mora biti isto tako precizan i osjetljiv, kao što je precizan i osjetljiv rad samog instrumenta.

Ne ulazeći u detaljna procjenjivanja tih metoda, čini se, da je ipak pažnju analitičara najviše privukla kolorimetrijska metoda određivanja olova u biološkom materijalu pomoću ditizona. Ona se vjerojatno najviše upotrebljavala i stoga, što je jednostavna i ne iziskuje primjenu skupocjenih i složenih instrumenata, a postignuti rezultati ništa ne zaostaju iza onih, koji su dobiveni upotrebom spektrografa, odnosno polarografa. Iz navedenih razloga i mi se u našem Institutu za određivanje olova u biološkom materijalu uglavnom služimo ditizonskom metodom.

Kao svaka, tako i ditizonska metoda ima i svoje »ranjive« strane, koje u stvari predstavljaju izvore mogućih pogrešaka. Jedna od najosjetljivijih strana ditizona je ta, što su ditizonati, koje ditizon isto tako lako i kvantitativno kao s olovom pravi i s drugim teškim metalima, vrlo osjetljivi prema oksidacionim sredstvima, koncentraciji vodikovih iona i svjetlosti. Stoga uvijek, kad se olovo određuje ditizonom, treba obratiti najveću pažnju na sve te okolnosti. Upravo

u pravilnom rješenju tih okolnosti i leži bit točnog određivanja olova pomoću ditizona u biološkom materijalu.

Kako se mogu te sve teškoće najpouzdanije svladati, odnosno mimoći, o tom smo raspravljali na našem prošlom savjetovanju. Rezultate tih iskustava već smo objavili (7) (8), a sada ih samo ponovo iznosimo ovdje sažeto u obliku propisa za određivanje olova u urinu.

A) *Određivanje olova u urinu pomoću ditizona. (8)*

a) Princip metode: Urin mineraliziramo spomoću jake dušične kiseline i vodikova superoksida. Mineralizirani ostatak otopimo u vodi i s amonijakom alkaliziramo prema timolftaleinu. Time, što prije dodamo otopinu kalijeva natrijeva tartarata, spriječimo stvaranje hidroksida onih elemenata, koje amonijak obara. Dodatkom otopine kalijeva cijanida prevedemo teške metale u njihove kompleksne cijanide, a oksidacione supstancije reduciramo dodatkom hidroksilamin-hidroklorida i kratkim zakuhavanjem.

Kad se otopina ohladi, izmučamo je s malim suviškom ditizona otopljenom u ugljičnom tetrakloridu, suvišak ditizona iz otopine odstranimo spomoću 0,5% otopine kalijeva cijanida, a crveno obojeni kompleks olovnog ditizonata fotometriamo.

b) Reagencije:

dušična kiselina konc. p. a. 1,4

vodikov superoksid 30% p. a.

amonijak 25% p. a.

redestilirana voda

kalijev cijanid p. a. (0,5 g na 100 ml red. vode)

kalijev cijanid p. a. (5 g na 100 ml. red. vode)

kalijev natrijev tartarat p. a. (5 g na 100 ml red. vode)

hidroksilamin hidroklorid p. a.

timolftalein (0,2 g na 100 ml apsolutnog alkohola)

difeniltiokarbazon (6 mg na 100 ml ugljičnog tetraklorida)

ugljični tetraklorid

c) Pribor:

1 ognjište s mikro-plamenicima

1 vodena kupelj

2 Kjeldahlove tikvice od 100 ml

1 trbušasta pipeta od 50 ml

1 odmjerna pipeta od 10 ml

3 odmjerne pipete od 5 ml

2 odmjerne pipete od 2 ml

2 odmjerne pipete od 1 ml

3 graduirana cilindra od 10 ml

2 pehara s izljevom od 50 ml

2 lijevka za odjeljivanje od 50 ml

1 lijevak za filtriranje, promjera 4 cm

filter-papir
lakmus-papir
2 široke epruvete

d) Uzimanje uzorka: Urin sabiremo u stakleno posude 24 sata. Posude moraju biti oprane na prije opisani način. Urin se konzervira toluolom. Ako se stajanjem stvori talog, treba ga otopiti dodatkom kiseline. Da bismo izbjegli onečišćenje urina olovom, možemo za analizu uzeti i onu količinu urina, koju pacijent jednokratno izluči. U tom slučaju uzima se u račun i specifična težina urina. Urin se ne smije sabirati u tvorničkim prostorijama, ni od radnika, dok su u svojim radnim odijelima.

Za analizu treba oko 110 ml urina.

e) Postupak: U Kjeldahlovu tikvicu od 100 ml otpipetiraj 50 ml urina i tome dodaj 5 ml koncentrirane dušične kiseline i dotle zagrijavaj, dok sadržaj tikvice ne dobije sirupastu konzistenciju. Nakon toga tikvicu ohladi i oprezno u nju dodaj 5 ml koncentrirane dušične kiseline te ponovo zagrijavaj do sirupaste konzistencije. Kad se sadržaj ohladi, dodaj u tikvicu 5 ml vodikova peroksida i na blagoj vatri tako dugo zagrijavaj, dok isparivanjem ostane u tikvici tek malo tekućine. Ako se organske supstancije potpuno ne razore, ponovi obradu vodikovim peroksidom. Kad je na taj način urin potpuno mineraliziran, otopi mineralizirani ostatak u 4 ml vode, zakuhaj na plamenu i kvantitativno prenesi u pehar od 50 ml.

U tako priređenu otopinu mineraliziranog urina otpipetiraj 2 ml 5% otopine kalijeva natrijeva tartarata, 0,25 ml timolftaleina i koncentriranog amonijaka, dok se boja ne promijeni. Neutraliziranoj otopini dodaj 5 ml 5% otopine kalijeva cijanida, 0,2 mg hidroksilamin hidroklorida i kratko zakuhaj. Kad se otopina u peharu ohladi na temperaturu sobe, kvantitativno je prenesi u lijevak za odjeljivanje i dobro izmućkaj (3 do 5 minuta) s 5 ml otopine ditizona. Sloj ugljičnog tetraklorida ispusti u drugi lijevak za odjeljivanje, a u prvi ponovo dodaj 3 ml otopine ditizona, na isti način izmućkaj i sjedini s prvom količinom. U lijevak za odjeljivanje, u kom se nalazi sav upotrebljeni ugljični tetraklorid, dodaj 10 ml 0,5% otopine kalijeva cijanida i mućkanjem odstrani iz ugljičnog tetraklorida neutrošeni ditizon. Tako opranu crvenu otopinu olovnog ditizonata ispusti u građuirani cilindar, dopuni čistim ugljičnim tetrakloridom do 10 ml, profiltriraj i fotometriraj.

Ako je za analizu upotrebljena samo ona količina urina, koju radnik ujedamput izluči, tada treba nađenu količinu pomnožiti s faktorom $24/T$, gdje je $T = 1000$ (sp. t. —1.).

Normalno čovjek u litri urina izluči 40—90 mg olova.

Prije smo spomenuli, da su točni podaci o količini izlučenog olova u urin pouzdano oruđe za nadziranje, koliko je radnik izvrnut djelovanju olova. Međutim, glavna teškoća takvog nadziranja nije toliko u samom određivanju u urinu sadržanog olova, koliko u načinu sabiranja urina. Urin za određivanje olova treba naime sabirati 24

sata, pa se kod takvog sabiranja može sam urin toliko onečistiti egzogenim olovom, da nađene količine olova u urinu ne daju ni približno točnu sliku, koliko je radnik izvrnut njegovu djelovanju. Da se izbjegnu sve mogućnosti takvih onečišćenja, urin se ne smije sabirati prije, nego što se radnici operu, presvuku svoja radna odijela i napuste radne prostorije. Urin se mora sabirati u potpuno čiste posude.

Kolike teškoće prate takav način sabiranja urina, mislim, da ne treba naročito isticati. Ali da ni takav način sabiranja urina ne osigurava potpunu »sterilnost« od egzogenog olova, najbolje svjedoče zahtjevi nekih autora, da se uvijek analiziraju dva usporedna uzorka urina. Ako se nađene količine olova među sobom ne slažu u oba uzorka urina, uvijek je prema njihovim navodima pouzdanija niža vrijednost, jer je mogućnost gubitka olova kod analiziranja mnogo manja, nego mogućnost zagađenja egzogenim olovom. S tim se stajalištem kemičar, istina, ne može složiti, ali ga navodimo kao primjer, kako je teško sabirati nezagađene uzorke urina.

Da bi ipak radili sa što je moguće manjom pogreškom, u posljednje vrijeme mnogi autori preporučuju, (9) da se za analizu ne uzima urin sabiran 24 sata, nego samo ona količina urina, koju radnik ujedamput izluči. Na taj se način mogu izbjeći sva ona onečišćenja, do kojih dolazi kod sabiranja urina u 24 sata. Paralelno izvršena određivanja takvih uzoraka urina i uzoraka sabiranih 24 sata opravdavaju način za određivanje ujedamput izlučene količine olova u urin.

U našem Institutu također upotrebljavamo takav način određivanja olova u urinu. To radimo na taj način, da urin radnicima oduzmemo u samom laboratoriju, i to rano ujutro, tako da uglavnom radimo s osamsatnom količinom urina. Sama analitička obrada urina ista je kao i kad se radi s uzorcima urina sabiranim 24 sata. Jedina je razlika u tome, što se u ovom slučaju mora uzeti u račun i specifična težina urina. U onim urinima, kojima je specifična težina mala, ne može se na taj način točno odrediti količina sadržanog olova. Specifična se težina uzima u račun na taj način, što se nađena količina olova pomnoži s faktorom $24/T$. Vrijednost za T izračunavamo prema formuli 1000 (sp. t.—1.).

Na osnovu dosad stečenih iskustava možemo preporučiti takav način određivanja olova u urinu kao vrlo pouzdan test, spomoću kojeg se može točno pratiti, da li su i koliko su radnici izvrnuti štetnom djelovanju olova.

2. Količina urinom izlučenog porfirina kao test za utvrđivanje opasnog otrovanja olovom.

Takav je način određivanja olova u urinu, istina, vrlo pouzdan, ali ujedno i dosta skup test. Njegovo izvođenje ne samo da je dugotrajno, nego zahtijeva i kvalificirano osoblje, pa se stoga može teško primijeniti u redovnom nadzoru, koliko su ugroženi radnici u pojedinim industrijama olova.

U posljednje je vrijeme uloženo mnogo truda, da se nađe test, koji bi bio toliko jednostavan i jeftin, da ga može izvesti ne samo liječnik, nego i njegovo tehničko osoblje u samoj tvornici, odnosno ambulanti, a ujedno da je i toliko pouzdan, da se liječnik u prosuđivanju olovne ugroženosti može na nj sigurno osloniti.

Neki su autori (10) (11) u svojim novijim radovima izrekli nadu, da bi se takav test mogao vjerojatno pronaći, kad bi se točnije pratilo izlučivanje koproporfirina u urin. Utvrđeno je naime, da svako povećanje apsorpcije olova dovodi do povećanog izlučivanja koproporfirina u urin. Do tog povećanog izlučivanja koproporfirina dolazi stoga, što olovo prekida normalni tok metabolizma hemoglobina. Posljedica takvog poremećaja je pojava porfirinurije.

Kako i u kojoj fazi olovo prekida normalni tok metabolizma hemoglobina, pitanje je, u kojem još nije postignuta puna suglasnost, ali da je pojava porfirinurije posljedica takvog patološkog metabolizma porfirina, činjenica je, u kojoj se svi slažu (12). Prema tome, svaka pojava porfirinurije ujedno je i znak povećane apsorpcije u organizmu.

Istina, svaki čovjek u 24 sata redovno urinom izluči 14—99 mikrograma porfirina, i to oko 80% koproporfirina izomerije I i oko 20% koproporfirina izomerije III, ali je u slučaju otrovanja olovom količina izlučenog koproporfirina mnogo veća, tako da može doseći količinu do 8000 mikrograma na dan.

Objekte izomerije, i koproporfirin I i koproporfirin III, topljive su u smjesi etera i octene kiseline, a u ultraljubičastom svijetlu fluoresciraju crveno. I jedno i drugo svojstvo koproporfirina zapravo su osobine, koje nam omogućuju, da dokažemo njihovo prisustvo u urinu. Većina autora radi toga preporučuje, da se porfirin iz octeno-kiselog urina ekstrahira eterom, iz etera da se preuzme u solnu kiselinu, i da se fluorescencija solno kisele otopine porfirina promatra u ultraljubičastom svijetlu. Manji broj autora promatra direktno fluorescenciju eternog sloja. Pojava crvene fluorescencije znači, da u istraživanom urinu ima porfirina.

Bilo da na jedan ili na drugi način ekstrahiramo porfirin iz urina, njegovu crvenu fluorescenciju prati još jedna druga — plava, odnosno plavozelena fluorescencija, koja potječe od supstancija, koje su zajedno s porfirinom ekstrahirane u eter, odnosno u solnu kiselinu. Ta je plava fluorescencija to izrazitija, što je koncentracija porfirina manja. Ako se radi s malim količinama urina zdravih ljudi, odnosno onih, koji u svom zvanju ne dolaze u dodir s olovom, plava fluorescencija potpuno prekriva crvenu, kao da urin uopće ne sadržava porfirina. Ako solna kiselina, odnosno eterni ekstrakt fluorescira crveno, znak je, da urin sadržava porfirina, a ako fluorescira plavo, znak je, da u urinu nema porfirina.

Polazeći od te činjenice, objavljeno je u posljednje vrijeme nekoliko semikvantitativnih metoda za određivanje porfirina u urinu (10) (11).

Glavni je nedostatak ovih metoda u tome, što pri takvoj obradi ne prelazi u eter, odnosno u solnu kiselinu samo porfirin, nego i druge supstancije, koje također fluoresciraju u ultraljubičastom svijetlu, pa stoga crvenu porfirinsku fluorescenciju redovno prati još i jedna druga — plava, odnosno plavozelena fluorescencija. Paralelna pojava i plave fluorescencije uz crvenu prečesto onemogućuje točno prosuđivanje, o kakvoj se fluorescenciji radi, pa prema tome i to, da li ima ili nema u urinu porfirina. To se događa naročito onda, ako se žele utvrditi već i one prve male promjene u količini urinom izlučenog porfirina, do kojih dolazi povećanjem apsorpcije olova.

Unatoč svim tim teškoćama, kao i činjenici, da porfirinuriju ne izaziva samo olovo, nego i čitav niz drugih kemikalija, ipak spomenuti autori smatraju takav način određivanja porfirina u urinu kao pouzdan test za prosuđivanje povećane apsorpcije olova. Štoviše, oni u izradi točnog porfirinskog testa vide laboratorijsko oruđe, kojim će liječnik moći utvrditi već prvi početak povećane apsorpcije. I to mnogo pouzdanije, nego bilo kojim drugim, već poznatim testom.

Premda se porfirin već mnogo godina isključivo na taj način izdvajao iz urina, ipak to nije bio ispravan put. U našim smo istraživanjima utvrdili, da ioni klora redovno gase fluorescenciju porfirina (13). Utvrdili smo, da je fluorescencija porfirina otopljenog u 10% sumpornoj kiselini oko 50 puta jača, nego ta ista količina porfirina, koja se otopi u 10% solnoj kiselini. Tu pravilnost nismo mogli utvrditi i kod određivanja porfirina u urinu. Istina, i porfirin ekstrahiran iz istog urina u 10% sumpornu i 10% solnu kiselinu uvijek je jače fluorescirao, ako je bio otopljen u sumpornoj, a ne u solnoj kiselini. Međutim, taj porast ne samo da nije iznosio 50%, nego je kadikad bio samo neznatno povišen. Tako mala razlika u intenzitetu fluorescencije naročito se zamijetila onda, kada smo porfirin ekstrahirali iz odležanih urina. Tako je, kad smo ekstrahirali porfirin iz svježih urina, razlika u intenzitetu fluorescencije između solno-kiselog i sumporno-kiselog ekstrakta dosegala i do 40%, a kad smo porfirin ekstrahirali iz tih istih urina nakon 24 sata, najveće su razlike u intenzitetu fluorescencije jedva dosezale do 15%. Te razlike bile su to manje, što je i količina porfirina bila manja.

Zapravo je jedina pravilnost (14), koju smo redovno, u svim tim mjerenjima zamjećivali, bila razlika u boji fluorescencije, kad smo porfirin dobiven iz istog urina otopili u solnoj i u sumpornoj kiselini. Kadgod smo promatrali fluorescenciju porfirina otopljenog u solnoj kiselini, uvijek je crvenu fluorescenciju porfirina pratila još i jedna druga, plava, odnosno plavičastozelena fluorescencija. Ta plava fluorescencija bila je to intenzivnija, što je količina porfirina u urinu bila manja, i njena je prisutnost često onemogućavala, da se sigurno prosudi, o kakvoj se fluorescenciji upravo radi. Intenzitet plave fluorescencije bio je jači i onda, ako je porfirin ekstrahiran iz odležanih urina. A kad smo promatrali fluorescenciju porfirina otopljenog u sumpornoj kiselini, crvenu fluorescenciju nije pratila ni koja druga

fluorescencija, nego je sumporno kisela otopina porfirina u ultraljubičastom svjetlu fluorescirala jače ili slabije izrazito crveno, već prema količini sadržanog porfirina. Kad u istraživanom urinu nije bilo porfirina, sumporno kiseli ekstrakt nije pokazivao nikakvu fluorescenciju.

Ta naša pokusom utvrđena opažanja mogu se, kako mi mislimo, ovako protumačiti: urin sadržava još i neke druge supstancije, koje prelaze u eter zajedno s porfirinom i u ultraljubičastom svjetlu fluoresciraju plavo. Te su supstancije topljive u solnoj, a nisu topljive, ili su tek vrlo slabo topljive u sumpornoj kiselini. Stoga porfirin ekstrahiran iz urina i otopljen u sumpornoj kiselini fluorescira jasno crvene bez primjese plave fluorescencije. Činjenica, što nismo našli isti onaj porast, kad smo radili s otopinama porfirina ekstrahiranog iz urina, koji smo našli i onda, kad smo radili s poznatim otopinama čistog porfirina, također je u skladu s našim naprijed navedenim tumačenjem. Izmjereni intenzitet fluorescencije, kad se radi o solno kiselim otopinama, ne potječe naime samo od porfirina, nego i od drugih supstancija sadržanih u urinu. Koje su to supstancije, predmet je naših daljih istraživanja.

Kad se radi o ekstrakciji porfirina iz urina, nije prednost sumporne kiseline samo u tom, što ona ne gasi fluorescenciju porfirina i što u nju ne prelaze iz urina supstancije, koje u ultraljubičastom svjetlu fluoresciraju plavo, nego i u tom, što se u njoj mnogo slabije otapaju žučne boje, nego ako se radi solnom kiselinom. Ta činjenica važna je stoga, jer i žučne boje gase fluorescenciju porfirina.

Obogaćeni tim iskustvima izradili smo novu semikvantitativnu metodu za određivanje porfirina u urinu, kojoj opis ovdje iznosimo:

B) Dokazivanje koproporfirina u urinu. (15)

a) Princip metode: Iz octeno kiselog urina porfirin se ekstrahira eterom, eteri sloj se opere vodom i izmučka sa 10% sumpornom kiselinom.

b) Reagencije:

ledeni ocat

10% sumporna kiselina

eter

c) Pribor:

1 graduirani cilindar od 10 ml

1 graduirani cilindar od 20 ml

1 odmjerna pipeta od 1 ml

1 odmjerna pipeta od 2 ml

1 odmjerna pipeta od 5 ml

1 lijevak za odjeljivanje od 50 ml

1 epruveta

1 živina lampa s filterom UG₂ (Schott)

d) Uzimanje uzorka: Za analizu treba sabrati urin izlučen u 24 sata.

e) Postupak: U lijevak za odjeljivanje odmjeri 10 ml istraživog urina, 0,2 ml ledenog octa, 20 ml etera i sve dobro promućkaj.

Kad se urin potpuno odijeli od eternog sloja, ispusti ga, a eterni sloj tri puta operi uzevši svaki puta po 2 ml destilirane vode.

Tako opranom eternom sloju dodaj 5 ml 10% sumporne kiseline i ponovo dobro promućkaj. Kad se sumporna kiselina odvoji, ispusti je u epruvetu i gledaj u ultraljubičastom svjetlu. Ako nemamo UG₂ filtera, možemo ga donekle nadomjestiti zasićenom amonijakalnom otopinom bakrenog sulfata. Crvena fluorescencija sumporne kiseline dokaz je povećanog izlučivanja porfirina u urin.

Na taj smo način istražili čitav niz urina zdravih ljudi, odnosno ljudi, koji po svojoj službi ne dolaze u dodir s olovom. Sumporno kiseli ekstrakt tih urina u ultraljubičastom svjetlu nije pokazivao nikakvu fluorescenciju. A sumporno kiseli ekstrakt, dobiven iz urina radnika izvrnutih povećanoj apsorpciji olova, u ultraljubičastom svjetlu jasno je crveno fluorescirao. Ta činjenica opravdava naše mišljenje, da se takav način dokazivanja porfirina u urinu može preporučiti kao prikladan test za procjenu, koliko su ugroženi radnici u industriji olovom.

Od kolike je vrijednosti takav test i da li on potpuno odgovara onim zahtjevima, koji se od takvog testa traže, teško je reći, jer smo na taj način istražili urin samo od 52 radnika, koji su bili izvrnuti djelovanju olova. Ali već i na osnovu dosadašnjih iskustava možemo zaključiti, da je na taj način dokazani porfirin u urinu za liječnika pouzdan znak za uzbunu. A to je činjenica, koja opravdava naš prijedlog, da se taj način dokazivanja porfirina u urinu usvoji kao test u rutinskom pregledu radnika izvrnutih djelovanju olova.

II. TEST ZA UTVRĐIVANJE POJAVE OPASNE APSORPCIJE BENZOLA

Na isti način, kao što možemo određivanjem izlučene količine porfirina u urin pratiti povećanje apsorpcije olova, možemo pratiti i povećanje apsorpcije benzola određivanjem u urin izlučene količine anorganskih i esterskih sulfata. A evo kako:

Pretežni dio organskog sumpora, koji se nalazi u jetri, oksidira se u anorganske sulfate. Ti se sulfati zajedno s anorganskim sulfatima, koji su iz intestinalnog trakta dospjeli u optok krvi, djelomično izluče u urin u obliku anorganskih sulfata. A drugi se dio anorganskih sulfata najprije spoji u jetri s fenolom i drugim njegovim derivatima, pa tek onda izluči u urin kao esterski sulfat. Svako povećanje fenolskih supstancija u organizmu dovodi do većeg izlučivanja esterskih sulfata u urin. To povećanje esterskih sulfata ide uvijek na račun anorganskih sulfata tako, da je odnos između anorganskih i esterskih sulfata u takvim slučajevima znatno poremećen.

Pod normalnim uvjetima prehrane izluči svaki čovjek u 24 sata redovno u urin 1,5 do 3 g sveukupnih sulfata. Od toga su 85—95% anorganski, a 5—15% esterski sulfati; drugim riječima, svaki čovjek normalno izluči u urin u 24 sata 1,4 do 2,75 g anorganskih i 0,1—0,25 g organskih sulfata — izraženih kao SO_3 (16).

Porast fenolskih supstancija u organizmu mogu izazvati razni faktori, pa tako i povećana apsorpcija benzola. Benzol se naime u organizmu djelomično oksidira u fenol, odnosno njegove derivate hidrokinon i breznkatehin. Ti se oksidacioni produkti benzola u jetri spoje sa sumpornom, odnosno glukuronskom kiselinom i tako spojeni izluče u urin.

Na taj se način svako povećanje apsorpcije benzola manifestira povećanim izlučivanjem esterskih sulfata, odnosno remećenjem ustaljenog odnosa između anorganskih i esterskih sulfata izlučenih u urin.

Taj porast esterskih, odnosno opadanje anorganskih sulfata počinje zajedno s početkom povećane apsorpcije benzola i ide vrlo brzo, tako da u akutnim slučajevima otrovanja benzolom procenat anorganskih sulfata može pasti i na 10, da se već nakon dva dana pošto radnici nisu više izvrgnuti benzolu, opet popravi na neko 75%.

Već i iz toga kratkog prikaza metabolizma sulfata jasno se vidi, koliko je i klinički, a i preventivno važno točno određivanje odnosa u urinu sadržanih esterskih i anorganskih sulfata.

U nastojanju, da pronađemo najprikkladniji način točnog određivanja toga odnosa između anorganskih i esterski vezanih sulfata u urinu, proradili smo čitav niz dosad objavljenih metoda.

U današnjim našim izlaganjima ne ćemo ulaziti u pojedinačni kritički prikaz navedenih metoda, kao ni u uzroke, koji su nas naveli, da se primimo izrade novog načina određivanja anorganskih i esterski vezanih sulfata u urinu. Ovdje samo ukratko iznosimo novu metodu za određivanje sulfata, koju smo izradili u našem institutu. (17)

A) *Određivanje sulfata u urinu. (17)*

a) Princip metode: Sumporna se kiselina izlučuje u urin u obliku anorganskih i esterskih sulfata. Najprije odredimo količinu cjelokupnih, a zatim količinu anorganskih sulfata. Razlika između cjelokupnih i anorganskih sulfata daje količinu esterskih sulfata.

Sulfate iz urina istaložimo određenom količinom 0,1 n otopine barijeva klorida. Istaloženi barijev sulfat odijelimo spomoću centrifuge, a centrifugat, koji odgovara 1 ml urina, prenesemo u drugu epruvetu. Suvišak barija istaložimo dodatkom kalijeva kromata, talog otopimo u razrijeđenoj solnoj kiselini i boju, koja se razvije dodatkom difenilkarbazida, fotometriremo. Filter S 53, debljina sloja $p = 0,5$ cm.

b) Reagencije:

- 0,4% otopina amonijeva acetata
- 40% otopina kalijeva kromata
- 0,1 n otopina barijeva klorida
- 10% otopina solne kiseline
- 20% otopina octene kiseline
- 0,2% alkoholna otopina fenolreda (fenolsulfonoftal)
amonijak koncentrirani

0,02% otopina difenilkarbazida (uzmi 0,100 g sym-difenilkarbazida, stavi u pehar od litre i dodaj 500 ml redestilirane vode. Pokrij stakalcem od ure i kuhaj, dok se potpuno ne otopi. Ako je potrebno, možeš, dok se kuha miješati staklenim štapićem. Ohladi, dopuni vodom do 500 ml i pohrani u tamnoj boci. Može se čuvati dva mjeseca na sobnoj temperaturi.

c) Pribor:

- 2 tikvice sa širokim grlom od 100 ml
- 2 odmjerne tikvice od 50 ml
- 2 odmjerne tikvice od 100 ml
- 1 graduirani cilindar od 50 ml
- 8 epruveta za cetrifugu od 15 ml
- 4 pipete odmjerne od 10 ml
- 9 pipeta odmjernih od 5 ml
- 6 pipeta odmjernih od 1 ml
- 2 lijevka \varnothing 6 cm
- 1 stakalce od sata
- 4 filter-papira
- 1 centrifuga električna
- 4 staklena štapića
- 1 pehar s izljevom od 100 ml
- 1 odmjerna tikvica od 500 ml

d) Uzimanje uzorka: Za analizu treba sabrati urin izlučen u 24 sata.

e) Postupak: 1. Za anorganske sulfate: U tikvicu sa širokim grlom od 100 ml odmjeri 10 ml filtriranog urina, 10 ml 10% otopine solne kiseline, 30 ml destilirane vode, i sve dobro izmiješaj. U epruvetu za centrifugu otpipetiraj 5 ml te smjese, dodaj 4 ml destilirane vode, izmiješaj i dodaj kap po kap 1 ml 0,1 n otopine barijeva klorida. Za dodavanja barijeva klorida ne treba sadržaj epruvete miješati. Smjesa neka stoji 2 sata, a nakon toga je centrifugiraj brzinom od neko 3000 okretaja. Od centrifugata otpipetiraj 5 ml, dodaj 2 kapi otopine fenolreda i miješajući dodaj kap po kap koncentriranog amonijaka, dok se ne pojavi ružičasta boja, a onda 20% otopine

octene kiseline, dok se nastala boja ne izgubi. Sada dodaj 1 ml 40% otopine amonijeva acetata, 1 ml 40% otopine kalijeva kromata i ostavi neka stoji 2 sata. Nakon toga centrifugiraj i talog operi triput uzevši svaki puta po 5 ml 0,4% otopine amonijeva acetata. Kad je talog opran, ukloni okretanjem na filter-papir i posljednje tragove tekućine, pa talog otopi u 10% otopini solne kiseline i kvantitativno prenesi u odmjernu tikvicu od 100 ml te do znaka dopuni 10% solnom kiselinom. Od te otopine prenesi 10 ml u drugu odmjernu tikvicu od 100 ml i dodaj 10 ml 0,02% otopine difenilkarbazida, i ostavi da stoji 10 minuta. Nakon 10 minuta dopuni tikvicu vodom do znaka i fotometriraj. Filter S 53 debljina sloja $p = 0,5$ cm.

Iz očitnog ekstinkcionog koeficijenta nađe se spomoću krivulje, koja se već prije odredila spomoću poznatih koncentracija natrijeva sulfata, količina sulfata sadržanih u 1 ml urina. Preračunavanjem na uobičajeni način izračuna se iz izlučene količine urina odnos između anorganskih i organski vezanih sulfata.

Cjelokupni sulfati: U tikvicu sa širokim grlom odmjeri 10 ml filtriranog urina i dodaj 10 ml 10% solne kiseline pa kuhaj na laganoj vatri oko 30 minuta. Da za kuhanja spriječiš prevelik gubitak vode, pokrij tikvicu stakalcem od ure ili prikladnim lijevkom. Nakon kuhanja sadržaj tikvice ohladi, pa ga kvantitativno prenesi u drugu tikvicu od 50 ml i dopuni vodom do znaka. Od tog razrjeđenja uzmi 5 ml i dalje obrađuj kao i anorganske sulfate.

Kako se iz naprijed spomenutog opisa vidi, na taj dosad ne- uobičajeni način mi ni ne određujemo direktno količinu u urinu sadržanih sulfata, nego zapravo količinu barija, koji je preostao iza taloženja sulfata s poznatom količinom barijeva klorida. Suvišak barija, koji je preostao iza taloženja sulfata, istaložen je u obliku barijeva kromata. Količina barija određena je spomoću difenilkarbazida, koji s kromatima daje intenzivno crvenu boju.

Izračunavanje količine sulfata iz tako nađene količine barija bio bi dosta dug račun. Međutim, sva ta preračunavanja izbjegli smo izradom krivulje poznatih koncentracija natrijeva sulfata. Spomoću te krivulje može se odmah iz očitnog ekstinkcionog koeficijenta saznati količina sulfata sadržanih u 1 ml istraživanog urina. Iz tako dobivene količine lako se, na uobičajeni način, izračuna, koliko je sulfata izlučeno u 24 sata. (17)

Da bismo provjerili pouzdanost takvog načina određivanja sulfata, izvršili smo čitav niz usporednih mjerenja, dodavanjem i bez dodavanja, poznatih količina natrijeva sulfata u urin. Podaci dobiveni takvim načinom određivanja sulfata vrlo se dobro slažu.

U originalnoj radnji opravdavaju opširno prikazani rezultati takvih mjerenja naš prijedlog, da se takav način određivanja odnosa između anorganskih i esterski vezanih sulfata u urinu upotrebi kao test kod utvrđivanja povećane apsorpcije benzola u organizmu.

III. TEST ZA UTVRĐIVANJE POJAVE OPASNE APSORPCIJE ŽIVE

Ni dijagnostika oboljenja izazvanih djelovanjem žive ne traži od liječnika ništa manje. Slika oboljenja izazvanih djelovanjem žive prečesto je naime tako nespecifična i neodređena, da u njoj nema ništa, što bi moglo uputiti liječnika, da je disfunkciju izazvala upravo prisutnost većih ili manjih količina žive u organizmu. Tako se na pr. slika Bazedovljeve bolesti ni u čem ne razlikuje od početne slike oboljenja izazvanog kroničnim merkurijalizmom.

Kao što smo, govoreći o oboljenjima izazvanim djelovanjem olova, već istakli, da su liječniku najvažniji točni podaci o količini olova sadržanog u organizmu, tako su mu isto i podaci o količini žive u organizmu najsigurnije pomagalo u dijagnostici otrovanja živom.

Takvi podaci nisu samo od koristi kliničaru, nego su i higijeničaru pouzdani test o pojavi povećane apsorpcije žive.

Bez sumnje je povoljna u tom teškom poslu, da se očuva zdravlje radnika izvrnutih djelovanju žive, činjenica, da je već i kvalitativni dokaz prisutnosti žive u urinu siguran znak, da je ugrožen radnik, koji radi živom.

Istina, svaki čovjek redovno prima u organizam i određene količine žive, pa ih prema tome redovno i izlučuje u svojim ekskretima. (18) No te su količine, koje čovjek normalno izluči u urin i feces u 24 sata minimalne i kreću se od 5—10 mikrograma. Tako male količine žive ne možemo na uobičajeni način dokazati, pa je stoga već i samo kvalitativno dokazivanje prisutnosti žive u urinu pouzdan znak povećane apsorpcije žive u organizam, odnosno sigurno pomagalo u dijagnostici kroničnih otrovanja živom.

Ta činjenica vjerojatno je i bila pobuda mnogim autorima (19), da pokušaju izraditi prikladan način za dokazivanje, odnosno određivanje žive u urinu. Broj dosad objavljenih metoda za dokazivanje žive u urinu znatan je, pa su neke od tih metoda i vrlo pouzdane. Međutim, sve su te metode tako složene i dugotrajne, da ih je teško primijeniti i u rutinskom poslu pregleda radnika izvrnutih djelovanju žive.

U želji, da nađemo način, kojim bismo mogli brzo i sigurno provjeriti, da li su radnici u svom poslu izvrnuti štetnom djelovanju žive ili nisu, izradili smo novu metodu kvalitativnog dokazivanja žive u urinu (20), koja je u stvari reakcija na merkuriione. Kod te reakcije, kojoj opis ovdje donosimo, merkuriioni katalitički ubrzavaju raspadanje ferocijanidaniona.

A) Mikrokatalitički dokaz žive u urinu. (20)

a) Princip metode: Ova je metoda u stvari kvalitativno dokazivanje minimalnih količina žive katalitičkim ubrzanjem raspadanja ferocijanidaniona u prisutnosti merkuriiona.

Mikrokatalitički dokaz žive osniva se kod te reakcije na činjenici, da se vrlo razrijeđene, slabo kisele vodene otopine kalijeva ferocijanida u prisutnosti kisika (zraka) raspadaju. Kod tog se kemijskog procesa polovina ferocijanidaniona, koji sudjeluju kod reakcije, raspada na cijanidanione i na ferokatione, koji sekundarno pod utjecajem kisika iz zraka prelaze u ferione. Ti ferioni s neraspadnutom polovinom ferocijanida i s kalijevim ionima stvaraju kalijev berlinat, kalijevu sol natkompleksnog jednovaljanog ferifero-aniona. Prije je taj kalijev feri-ferocijanid bio poznat pod imenom »topljivo berlinsko modrilo«.

Raspadanje slabo kiselih, razrijeđenih vodenih otopina kalijeva ferocijanida pospješuje se merkuriionima, koji djeluju kao katalizator u homogenoj vodenoj fazi.

b) Reagencije:

0,42% otopina kalijeva ferocijanida (42 mg fino smrvljenog kalijeva ferocijanida otopi u 100 ml redestilirane vode)

0,05 n otopina dušične kiseline (0,3 ml HNO₃ konc. p. a. stavi u tikvicu od 100 ml i dopuni do znaka redestiliranom vodom). Reagencije treba pripremati uvijek svježe.

c) Pribor:

2 odmjerne tikvice od 100 ml

1 odmjerna pipeta od 5 ml

6 odmjernih pipeta od 1 ml

4 epruvete

1 termometar do 100° C

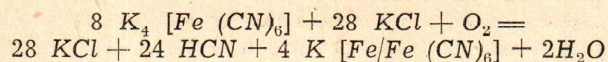
1 vodena kupelj

d) Uzimanje uzorka: Za analizu treba oko 2 ml urina. Preporučuje se, da se uzorak urina za analizu uzme iz količine urina sabrane u 24 sata.

e) Postupak: Uzmij dvije potpuno čiste epruvete i u jednu otpipetiraj 1 ml filtriranog urina, za koji sumnjaš da sadržava žive, a u drugu — kontrolnu epruvetu — otpipetiraj 1 ml filtriranog urina, za koji pouzdano znaš, da ne sadržava žive. U obje epruvete dodaj 3 ml redestilirane vode i dobro izmiješaj. Iz svake epruvete prenesi po 1 ml razrijeđenog urina u druge dvije epruvete, pa u svaku tu epruvetu dodaj po 1 ml 0,05 normalne dušične kiseline i 1 ml kalijeva ferocijanida. Epruvete ostavi u vodenoj kupelji od 65° C točno 20 minuta.

Ako u 20 minuta sadržaj epruvete, u kojoj se nalazi istraživani urin, poplavi, a sadržaj kontrolne epruvete ne promijeni boju, znak je, da u urinu ima žive. Poplavi li i sadržaj kontrolne epruvete, znak je, da ili reagencija ili epruvete nisu bile dosta čiste, pa pokus moramo ponoviti novim otopinama i ponovo opranim epruvetama.

Mikrokatalitički dokaz žive osniva se kod te reakcije na činjenici, da se vrlo razrijeđene slabo kisele vodene otopine kalijeva ferocijanida u prisutnosti kisika (zraka) raspadaju prema jednadžbi:



Kod tog se kemijskog procesa polovina ferocijanidaniona, koji sudjeluju kod reakcije, raspadā na cijanidanione i na ferokatione, koji sekundarno prelaze u feriiione pod utjecajem kisika iz zraka. Ti feriiioni s neraspadnutom polovinom ferocijanida i s kalijevim ionima stvaraju kalijev berlinat, kalijevu sol natkompleksnog jednovaljanog feri-fero-aniona. Prije je taj kalijev feri-fero-cijanid bio poznat pod imenom »topljivo berlinsko modriilo«. Prisutnost merkuriiona pospješuje to raspadanje kalijeva ferocijanida u razrijeđenim slabo kiselim vodenim otopinama. Merkuriioni u tako homogenoj vodenoj fazi djeluju kao katalizator.

Kako se iz priloženog opisa vidi, takvo je dokazivanje žive jednostavno i brzo. Pouzdanost takvog dokazivanja žive provjerili smo u nizu određivanja, pa ga stoga i možemo preporučiti kao pouzdan test za utvrđivanje povećane apsorpcije žive.

U navedenim primjerima jasno je istaknuta uloga biokemičara u nastojanju oko očuvanja zdravlja radnika izvrnutih neposrednom ili posrednom djelovanju industrijskih otrova. Uvjereni smo, da se jedino predanom suradnjom kemičara i liječnika može iskovati sigurno oruđe, kojim će se liječnik moći sigurno služiti u prevenciji profesionalnih oboljenja.

*Iz Instituta za higijenu rada
Zagreb*

LITERATURA

1. Cantarow, A. and Trumper, M., Lead poisoning, Baltimore, Williams et Wilkins Company (1944)
2. Levine, L. and Fahy, J. O., J. Ind. Hyg. and Tox. **27**, 217 (1945)
3. Elkins, H. B., Ege, J. F. and Ruotolo, B. P., J. Ind. Hyg. and Tox. **23**, 256 (1941)
4. Harrold, G. C., and Meek, S. F., Ind. Med. and Surg. **18**, 407 (1949)
5. Ruf, H. W. and Belknap, E. L., J. Ind. Hyg. and Tox. **22**, 445 (1940)
6. Fairhall, L. T., Occupational Med. **3**, 13 (1947)
7. Ruždić, I., Arhiv za medicinu rada **1**, 17, (1948)
8. Ruždić, I., Arhiv za medicinu rada **2**, 105 (1948)
9. Cholak, J. and Bambach, K., J. Ind. Hyg. and Tox. **25**, 47 (1943)
10. Meek, S. F., Mooney, T. and Harrold, G. C., Indust. Med. **17**, (1948) 469
11. de Langen, C. D. and ten Berg, J. A. G., Acta med. Scand. **130**, (1948) 37 cit. prema J. A. M. A. **138** (1948) 244 i Ars medici **11**, (1948) 643
12. Roughton, F. J. W. and Kendrew, J. C., New York, Interscience publishers inc. 1949. p. 253

13. Weber, K. i Ruždić, I., predano u štampu (Experientia)
14. Ruždić, I., predano u štampu (Arhiv za higijenu rada)
15. Ruždić, I., u pripremi za štampu
16. Cantarow, A. and Trumper, M., Clinical Biochemistry, London, W. B. Saunders Comp. (1946)
17. Ruždić, I., u pripremi za štampu
18. Rodenacker, I., Die chemischen Gewerbekrankheiten und ihre Behandlung, Berlin, Springer 1942.
19. Hubbard, D., Ind. Eng. Chemist. Anal., Edit. 20, 1940
20. Pinter, T. i Ruždić, I., Liječnički vjesnik 64, (1942) 48

SUMMARY

DETERMINING THE PRESENCE OF DANGEROUS ABSORPTION OF SOME INDUSTRIAL POISONS

Tests are described permitting to determine the presence of dangerous absorption of such industrial poisons as lead, benzene and mercury. **Lead.** A very reliable test for observing whether and to what extent workmen are exposed to the dangerous influence of lead is the amount of lead secreted in urine. In view of the fact that this method is both expensive and slow in yielding results, the author describes also the porphyrin test. Every increase of lead absorption causes increased secretion of coproporphyrin in urine, therefore porphyrinuria may be depended upon as a reliable sign of dangerous absorption of lead. Tracing coproporphyrin in the way earlier described by the author permits detecting even those first small changes in the amount of porphyrin secreted in urine caused by an increased absorption of lead. The porphyrin test is cheap, simple and reliable to such an extent that the doctor can depend upon it in assessing lead poisoning hazards. — **Benzene.** There exists an established relation between anorganic and esteric sulphates secreted in urine. Every increase in benzene absorption reflects itself in an increased secretion of esteric sulphates thus disturbing the established relation between anorganic and esteric sulphates secreted in urine. Therefore every increase in esteric sulphates is a sure sign of an increased absorption of benzene, and the measurement of the relation between anorganic and esteric sulphates secreted in urine, as described in the article, may be regarded as a reliable test for assessing the degree of the benzene poisoning hazard. — **Mercury.** At the end the author describes the new microcatalytic method of tracing mercury in urine which may be used as a sure test for detecting dangerous mercury absorption.

• Institute of Industrial Hygiene,
Zagreb