

Arh. hig. rada, 29 (1978) 157.

UZIMANJE BIOLOŠKOG MATERIJALA
I TOKSIKOLOŠKOKEMIJSKE ANALIZE KOD
PROFESIONALNIH OTROVANJA

DANICA PRPIĆ-MAJIĆ

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

(Priljeno 15. II 1978.)

Opisana su osnovna načela rada kod toksikološkokemijskih analiza u dijagnostici profesionalnih otrovanja. U tablicama su zbirno prikazani kemijski testovi pri ekspoziciji najvažnijim metalima, nemetalima, aromatskim ugljikovodicima, halogenim ugljikovodicima, alkoholima, amino i nitro spojevima. Podaci o tehnikama određivanja i načinu uzimanja biološkog materijala s relevantnim normalnim vrijednostima mogu poslužiti kao korisna informacija stručnjacima toksikološke kemije i zdravstvenim stručnjacima o čijoj suradnji ovisi uspješan rad i daljnji razvoj toksikološkokemijske dijagnostike kod profesionalnih otrovanja.

U dijagnostici profesionalnih otrovanja izvanredno važno mjesto pripada toksikološko-kemijskim testovima. Laboratorijskim se analizama određuje stupanj apsorpcije toksične tvari, utvrđuju načini i brzina metabolizma, dokazuje pojava metabolita, patoloških reakcija i spojeva, prati tok bolesti i učinak antidota, te utvrđuje prestanak djelovanja otrova. Analitičar toksikolog daje na osnovi testova u pravo vrijeme pravi odgovor kliničaru toksikologu, liječniku medicine rada ili drugom stručnjaku, pa tako na suvremen i objektivan način pridonosi sprečavanju i liječenju profesionalnih bolesti.

Osnovna je prednost analize biološkog materijala prema određivanju štetne tvari u radnoj atmosferi da se biokemijskim testom određuje individualna ekspozicija i karakteristični odgovor organizma svakog pojedinca na djelovanje štetne tvari. Eksponirani radnik je vlastiti »sakupljač« štetne tvari, koja se direktno ili indirektno preko nastalih promjena dokazuje u biološkom materijalu.

U toksikološkoj kemiji, slično kao i u drugim područjima analitičke kemije, prvo se određuje što treba analizirati, a zatim kada treba uzeti biološki uzorak, te kako treba izvršiti analizu.

Da bi se odgovorilo na pitanje *što treba analizirati*, potrebna su osnovna toksikološka znanja, koja se stječu na eksperimentalnim životinjama i na ljudima dobrovoljcima. Za analitičara je posebno važno poznavanje biotransformacije, distribucije i eliminacije štetne tvari.

Većina štetnih tvari u organizmu se metabolički mijenja (»biotransformira«) te izlučuje iz organizma u obliku metabolita. Neki elementi i spojevi izlučuju se nepromijenjeni. Tip promjene štetne tvari ovisi o vrsti otrova, o načinu unošenja i mehanizmu resorpcije. Životna dob, razlika u spolu i neki hormoni mogu djelovati na brzinu biotransformacije. Složeni kemijski procesi biotransformacije mogu se svrstati u dva osnovna tipa reakcije: sintetski i nesintetski procesi. Sintetski procesi ili konjugacija enzimatski su katalizirane reakcije stvaranja novih spojeva između egzogene tvari ili njezina metabolita i endogenih jednostavnih spojeva, kao što su glukuronska kiselina, glutation i amino-kiseline cistein i glicin. U procese konjugacije ubrajaju se još sulfonacija (stvaranje esterskih sulfata), metilacija (prijenos metilne skupine na amino-spojeve, tio-spojeve i fenolne spojeve) i acetilacija (prijenos acetatne skupine na primjer na aromatske amine). Nesintetski procesi su procesi oksidacije ili/i hidroksilacije (na primjer stvaranje hidroksilne i acetatne skupine), procesi redukcije (na primjer redukcija aldehida i ketona, te azo-spojeva i nitro-spojeva) i procesi hidrolize (na primjer hidroliza estera i amida) (1). U većine nesintetskih reakcija enzimi također imaju ulogu katalizatora reakcije. Metaboliti nastali biotransformacijom štetne tvari mogu biti manje, jednako toksični ili čak toksičniji od ulazne tvari.

Distribucija toksične tvari u tkivima i organima ovisi o više činilaca, kao što su na primjer fizičko-kemijske osobine i način unošenja, sklonost prema pojedinim organima, vrsta staničnih membrana i dr. Neki se otrovi selektivno odlažu u stanovitim organima ili tkivima (na primjer jod u štitnjači, olovo, fluor i stroncij u kostima, kadmij i uran u bubregu). Jetra je glavni organ metabolizma, pa se zato u njoj trajno ili povremeno nakupljaju mnogi otrovi.

Većina toksičnih tvari odstranjuje se iz organizma mokraćom, stolicom i izdahnutim zrakom. Neke se tvari izlučuju i preko kože, u slini i u mlijeku. Kao što je jetra glavni organ metabolizma otrova, tako je bubreg glavni organ za eliminaciju otrova iz organizma.

U dijagnostici profesionalnih otrovanja najviše se za toksikološko-kemijsku analizu rabe krv i mokraća. Kod ekspozicije nekim plinovima i otapalima može se analizirati izdahnuti zrak, a neki toksični metali i nemetali (antimon, arsen, kadmij, kositar, krom, nikalj, olovo, selenij, vanadij, živa) mogu se odrediti u kosi i noktima. Feces, znoj i želučani sok, te cerebrospinalni likvor, koštana srž i bioptički uzorci organa praktički se ne upotrebljavaju. Bilo bi najbolje, čak idealno, kad bi se svaki karakteristični pokazatelj štetne tvari mogao odrediti u mokraći jer je to otpadni i lako dostupan materijal. Ipak urin nije uvijek dobar uzorak za analizu. Koncentracija ispitivane tvari ovisna je o brzini izlučivanja štetne tvari ili njezina metabolita, a ta se brzina mijenja pod utjecajem

glomerularne filtracije i pH urina (2). Brzina izlučivanja može biti značajno smanjena zbog oštećenja bubrega izazvanog apsorpcijom toksične tvari, kao i zbog drugih već postojećih bolesti bubrega i drugih organa (3). Izlučivanje štetnih tvari često nije ravnomjerno, pa se preporučuje analiza 24-satnog uzorka. Međutim iz objektivnih razloga ili nemarnosti, takav uzorak nije uvijek 24-satni uzorak, a preračunavanje rezultata na koncentraciju kreatinina, osmolalitet ili specifičnu težinu ne daje uvijek zadovoljavajuće rezultate. Zato su analize krvi u stanovitoj prednosti i krv, zahvaljujući boljim analitičkim postupcima postaje sve važniji organ za otkrivanje štetnih tvari u profesionalnoj toksikologiji.

Biološke promjene izazvane toksičnom tvari mogu se ponekad pratiti preko više pokazatelja. Takva složena ispitivanja daju mnogo više uvida u stvarno oštećenje organizma, a ovisno o njihovoj osjetljivosti moguće je pratiti postepenost prijelaza od lagano povećane apsorpcije do teškog otrovanja.

Biološki uzorak za toksikološkokemijsku analizu treba uzeti u *pravi čas* koji se određuje na temelju poznavanja apsorpcije, biotransformacije i eliminacije štetne tvari i njenih metabolita u organizmu. Kod akutnih otrovanja stvarna će količina apsorbirane tvari biti bolje utvrđena ako se na vrijeme odredi koncentracija štetne tvari i veličina promjene biološkog karakterističnog pokazatelja u dostupnom biološkom uzorku. Kronična otrovanja katkada ne bi postojala da je bilo pravovremene laboratorijske kontrole. Kod otrova s latentnim djelovanjem važna je kontinuirana kontrola kroz čitav period latencije.

Na treće pitanje *kako treba izvršiti analizu biološkog uzorka* analitičar odgovara: »Metodama koje su specifične, točne, osjetljive i ponovljive«. Uz to je u principu poželjno da analitička metoda bude lako izvediva, relativno brza i da ne zahtijeva komplicirane tehničke uređaje. Metoda je specifična ako se njome određuje ciljano tražena tvar, te ako se u određivanje karakterističnog pokazatelja ne upliću druge normalno prisutne ili patološke komponente. Točnost označuje sistematsku devijaciju od prave vrijednosti. Osjetljivost ili detekcijska granica je najmanja ukupna količina ili koncentracija koju je moguće odrediti jednom metodom. Uz suvremenu tehničku opremu detekcijske granice su značajno poboljšane, pa je tako moguće odrediti neke metale u koncentraciji manjoj od jednog dijela na bilijun (ppb) (4). Metoda je reproducibilna kada su varijacije unutar nekoliko mjerenja istog uzorka što manje u odnosu na srednju vrijednost. U pravilu svaku novu metodu treba provjeriti najmanje još jednom metodom, koja se temelji na drugom principu. Referentni standardi (uzorci koji sadržavaju točno poznatu koncentraciju ispitivane tvari) značajna su pomoć analitičaru. Vrlo je korisno rezultate analiza provjeriti u suradnji s jednim ili više drugih laboratorija. Upravo su takve interlaboratorijske kontrole upozorile na sistematske pogreške nekih analiza (5, 6).

Rezultat analize ovisi i o načinu uzimanja biološkog materijala. Medicinsko i tehničko osoblje treba dobro poznavati kriterije koji se odnose na vađenje krvi, sakupljanje mokraće i pripremu svakog drugog bio-

loškog materijala za toksikološku analizu. Tako, na primjer, biološki materijal za analizu teških metala (tablica 1) ne smije se skupiti u epruvetu ili drugo posuđe koje nije naročitim pranjem oslobođeno («dekontaminirano») od teških metala. Za analizu metala čije su normalne koncentracije u krvi vrlo niske (na primjer kadmij) zbog adsorpcije metala na staklenim stijenkama bolje su polietilenske epruvete od staklenih epruveta. Velika je pogreška ako se kod analize alkohola u krvi koža dezinficira alkoholom, a kod analize žive s pomoću sublimata (HgCl_2). Koncentracija fotosenzibilnih tvari kao što su na primjer porfirini, bit će značajno niža ako se biološki uzorak ne zaštititi od svjetla.

U tablicama 1—6. prikazani su kemijski testovi kod ekspozicije najvažnijim metalima, nemetalima, aromatskim ugljikovodicima, halogeniranim ugljikovodicima, alkoholima, amino-spojevima i nitro-spojevima. Uzete su u obzir suvremene metode koje su ili provjerene u domaćim i vanjskim laboratorijima ili preporučene kao standardne metode na međunarodnim i drugim skupovima ili se prema podacima iz literature najčešće upotrebljavaju u dijagnostici profesionalnih bolesti. Za neke pokazatelje dano je više različitih metoda, što čitaocu omogućuje izbor.

Većina metala (tablica 1) određuje se u krvi ili u mokraći, a za analizu se može iskoristiti nekoliko različitih tehnika (spektrofotometrija, polarografija, atomskoapsorpcijska plamena i besplamena spektrofotometrija, neutronska aktivacija, emisijska spektrografija i druge).

Antimon se najčešće određuje u mokraći spektrofotometrijski mjerenjem obojenog kompleksa između peterovalentnog antimona s organskom bojom Rodaminom B (7). Ta je metoda provjerena i preporučena za rutinsku analizu (8). Osim u urinu, antimon se može odrediti u punoj krvi i u serumu. Od suvremenih metoda treba spomenuti metodu neutronske aktivacije kombiniranu sa separacijom antimona na ionskim izmjenjivačima (9) i metodu atomske apsorpcijske spektrofotometrije (AAS) (10). Podaci o normalnim vrijednostima antimona vrlo su oskudni. Uz upotrebu metode neutronske aktivacije *Wester* (11) navodi za urin vrijednosti $1,5 \pm 0,5 \mu\text{g Sb}/24\text{-satni urin}$, a za serum $0,75 \pm 0,51 \mu\text{g Sb}/\text{l serum}$.

Cink se istražuje u krvi, plazmi ili serumu, te u mokraći. *Hamdi* (12) smatra da se povećana ekspozicija cinku može bolje utvrditi analizom cinka u punoj krvi ili u izoliranim staničnim elementima krvi nego analizom cinka u plazmi, odnosno u mokraći. Ipak se serum ili plazma još uvijek najčešće upotrebljavaju. Koncentracija cinka u biološkom materijalu može se odrediti na više načina. Određivanje AAS tehnikom vrlo je popularno, jer je ta metoda jednostavna, a uz to i osjetljivija od spektrofotometrijske metode s ditizonom. *Fuwa* i suradnici (13) objavili su vrlo jednostavnu metodu u kojoj se serum ili mokraća razređeni s deioniziranom vodom direktno aspiriraju u plamenik atomskoapsorpcijskog spektrofotometra. Serum se može prethodno osloboditi proteina (14). Određivanje cinka u plazmi, eritrocitima i u mokraći AAS tehnikom potanko su proučili *Prasad* i suradnici (15) i njihova se metoda može preporučiti za određivanje cinka u eritrocitima, dok se koncentracija

cija cinka u plazmi i u mokraći može mnogo jednostavnije odrediti direktnom aspiracijom razrijeđenog uzorka (13, 16). Cink je ubikvitarni metal i zato se biološki uzorak može lako kontaminirati. Posuđe za sakupljanje materijala mora se naročitim pranjem dekontaminirati (tablica 1). Dokazano je da se krv može lako kontaminirati upotrebom tzv. »vacutainer« pribora (17). Polietilenska štrcaljka i neke vrste igala od nerđajućeg čelika ne otpuštaju cink (18). Antikoagulansi mogu biti također izvor pogreške. O svim tim činiocima treba voditi računa prije uvođenja metode.

Kadmij se može odrediti u punoj krvi, serumu i u mokraći. Budući da su normalne koncentracije kadmija relativno vrlo niske, za njegovo određivanje mogu se upotrebljavati samo vrlo osjetljive metode. Danas se najviše primjenjuju plamena i besplamena AAS tehnika. *Lehnert, Schaller* i *Haas* (19) opisali su određivanje kadmija u serumu i u mokraći plamenom AAS tehnikom uz prethodnu mineralizaciju uzorka, keliranje kadmija amonijevim pirolidin ditiokarbamatom (APDK) i ekstrakciju Cd-kelata metil-izobutylketonom (MIBK). Osim keliranja kadmij se prije AAS analize može koncentrirati i pomoću ionskih izmjenjivača (20). Određivanje kadmija besplamenom AAS (21, 22) vrlo je jednostavno, pa je zbog te osobine, a i niske granice detekcije, ta tehnika u prednosti. Metode neutronske aktivacije i voltometrije s kapajućom elektrodom također su vrlo osjetljive tehnike i mogu se upotrijebiti za određivanje kadmija u biološkom materijalu.

Prema dosadašnjim ispitivanjima čini se da nije definitivno razriješeno može li kadmij u mokraći biti realan pokazatelj povećane ekspozicije. Na početku ekspozicije prvo se »zasite« sva mjesta na koja se može vezati kadmij, a poslije se kadmij izlučuje proporcionalno ekspoziciji (23). Pušenje cigareta povećava opterećenje tijela (»body burden«) kadmijem (24). Povećano izlučivanje proteina mokraćom popratna je pojava kronične ekspozicije kadmiju, što je kemijskim i elektroforetskim ispitivanjima dokazao *Piscator* (25). Isti je autor i razradio kvantitativnu metodu za brzo određivanje ukupnih proteina kod ekspozicije kadmiju (26). Prema ranijim ispitivanjima (27, 28) smatralo se da se kod ekspozicije kadmiju pretežno izlučuju proteini s niskom molekularnom težinom (<30.000). Međutim, u novije je vrijeme dokazano (29, 30) da se osim niskomolekularnih proteina izlučuju i proteini s visokom molekularnom težinom (>30.000). Zato se kod ekspozicije kadmiju ovisno o mogućnostima, trebaju izvršiti i elektroforetska ispitivanja urinskih proteina. Naročito je važno određivanje specifičnih proteina lizosoma, ribonukleaze, β -mikroglobulina i albumina (30).

Ekspozicija kromu može se dobro pratiti preko izlučivanja kroma mokraćom (31). Krom se može određivati u punoj krvi, odnosno u serumu ili plazmi, kao i u eritrocitima. Od više tehnika kojima je moguće odrediti krom u biološkom materijalu, treba istaći AAS plamenu (32) i besplamenu (33, 34) tehniku, te spektrofotometrijsko određivanje obojenog kompleksa oksidacijom nastalog bikromata i 1,5-difenil karbazida (35). Kod vađenja krvi, slično kao i kod cinka pažnju treba obratiti

Tablica 1

Kemijski testovi kod ekspozicije metalima, anorganskim i organskim spojevima metala

Štetna tvar	Karakteristični pokazatelj	Biološki uzorak	Količina i priprema uzorka	Tehnika određivanja	Normalne vrijednosti	Litera-tura
Antimon	antimon	urin	24-satni urin s dodatkom 5 g timola/100 ml urina	spektrofotometrija obojenog kompleksa s Rodaminom B uz prethodnu mineralizaciju uzorka i oksidaciju Sb^{3+} u Sb^{5+}	nisu objavljene	8
		urin	24-satni urin	neutronska aktivacija kombinirana sa separacijom na ionskim izmjenjivačima	$1,5 \pm 0,57 \mu\text{g}/24 \text{ h}$	11
		serum	2 ml		$0,75 \pm 0,51 \mu\text{g}/1$	11
Cink	cink	serum	2 ml	plamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS) razrijeđenog uzorka s deioniziranom vodom	nisu objavljene	13
		urin	24-satni urin		nisu objavljene	13
		plazma	2 ml		$82-102 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$	16
		plazma	2 ml		$104 \pm 14 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$	15
		eritrociti	1-2 ml		$14,0 \pm 1,5 \mu\text{g}/\text{ml}$	15
		urin	24-satni urin		$643 \pm 198 \mu\text{g}/24 \text{ h}$	15
		plazma	2 ml		$86 \pm 20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$	12
		eritrociti	1-2 ml		$9,5 \pm 1,2 \mu\text{g}/\text{ml}$	12
	urin	24-satni urin		$371 \pm 40 \mu\text{g}/24 \text{ h}$	12	

Kadmij	kadmij	serum	10 ml	plamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS) uz pret-hodnu mineralizaciju uzorka, keliranje i ekstrakciju	$0,33 \pm 0,24 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$	19
		urin	24-satni urin		$0,98 \pm 0,36 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$	
		krv	10 ml krvi s heparinom	plamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS) uz pret-hodnu separaciju s ionskim izmjenjivačima	$0,95 \pm 0,21 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$	20
		urin	24-satni urin		$1,37 \pm 0,21 \mu\text{g}/1000 \text{ ml}$	
		serum	1 ml	besplamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS) razrijeđenog uzorka s detoniranim vodom	$0,88 \pm 0,07 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$	21
		urin	24-satni urin	besplamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS)	$1,50 \pm 0,70 \mu\text{g}/1000 \text{ ml}$	
		krv	1 ml krvi s heparinom	besplamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS) uz prisutnost HF	$0,13 \pm 1,04 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$	22
	ukupni proteini	urin	24-satni urin	spektrofotometrija obojenog kompleksa s baskrenim sulfatom (Beneditov reagens) uz pret-hodnu separaciju proteina fosfovolframovom kiselinom (Tsuchiyin reagens)	$< 50 \text{ mg}/1000 \text{ ml}$	26

Štetna tvar	Karakteristični pokazatelj	Biološki uzorak	Količina i priprema uzorka	Tehnika određivanja	Normalne vrijednosti	Litera- turni podatak	
Krom	krom	plazma	2 ml	plamena atomska ap- sorpcijska spektrofotometrija (AAS) uz prethodnu mineralizaciju uzorka, oksidaciju Cr ³⁺ u Cr ⁶⁺ i ekstrakciju	1,1—6,4 µg/100 g	32	
		eritrociti urin	1—2 ml 24-satni urin		2,1—3,6 µg/100 g nisu objavljene	32	
		urin	urin	24-satni urin	besplamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS) s mineralizacijom uzorka ili bez nje	3—38 µg/1000 g	32
		serum	serum	1 ml	besplamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS)	0,23—1,9 µg/100 ml	34
		plazma eritrociti	plazma eritrociti		spektrofotometrija obojenog kompleksa s 1,5-difenil karbazidom uz prethodnu mineralizaciju uzorka i oksidaciju Cr ³⁺ u Cr ⁶⁺	1,7—5,2 µg/100 g 1,4—3,8 µg/100 g	35 35
Mangan (elementarni i anorganski spojevi man- gana)	mangan	urin	24-satni urin	atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS) uz prethodnu mineralizaciju uzorka, ke- liranje i ekstrakciju	1—10 µg/1000 ml	37	

Mangan (organski spojevi) Metilciklo- pentadienil manganov trikarbonil ($\text{CH}_3\text{C}_5\text{H}_4\text{Mn}(\text{CO})_3$)	urin	24-satni urin	besplamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS) uzorka razrijeđenog vodom sa keliranjem i ekstrakcijom ili bez njih	0—25 $\mu\text{g}/1000$ ml	38
	serum	1 ml		nisu objavljene	38
	serum	1 ml		besplamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS)	0,50—7,89 $\mu\text{g}/1000$ ml
Mangan (organski spojevi) Metilciklo- pentadienil manganov trikarbonil ($\text{CH}_3\text{C}_5\text{H}_4\text{Mn}(\text{CO})_3$)	urin	24-satni urin	atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS) plamena (37) ili besplamena (38)	10 $\mu\text{g}/1000$ ml	39
	krv	3 ml krvi s heparinom ili s Na_2EDTA	besplamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS) uzorka razrijeđenog Tritonom X-100 (izo-oktilfenoksi- polietoksietanoletilen oksid)	< 40 $\mu\text{g}/100$ ml	44
	krv	20 ml krvi s heparinom	spektrofotometrija obojenog kompleksa s difenilokarbazonom (difenilokarbazon) uz prethodnu mineralizaciju uzorka	< 60 $\mu\text{g}/100$ ml	45, 46
Olovo (elementarno i anorganski spojevi olova)	urin	24-satni urin	spektrofotometrija obojenog kompleksa s difenilokarbazonom (difenilokarbazon) uz prethodnu mineralizaciju uzorka	< 80 $\mu\text{g}/1000$ ml	47
	krv	5 ml krvi s heparinom	plamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS) uz prethodnu mineralizaciju uzorka, keliranje i ekstrakciju	nisu objavljene	48
	urin	24-satni urin s dodatkom 5 g timola) 100 ml urina	spektrofotometrija obojenog kompleksa s difenilokarbazonom (difenilokarbazon) uz prethodnu mineralizaciju uzorka, keliranje i ekstrakciju	nisu objavljene	48

Štetna tvar	Karakteristični pokazatelj	Biološki uzorak	Količina i priprema uzorka	Tehnika određivanja	Normalne vrijednosti	Litera-turni podatak
		krv	5 ml krvi s heparinom	plamena atomska apsorpcijska spektrofotometrija (AAS) uz prethodnu deproteinizaciju uzorka	nisu objavljene	49
		krv	6 ml krvi s heparinom	polarografija od $-0,25$ do $-0,60V$ uz prethodnu mineralizaciju uzorka i separaciju olova taloženjem	nisu objavljene	52
		urin	24-satni urin	polarografija od $-0,25$ do $-0,60V$ uz prethodnu separaciju olova taloženjem	nisu objavljene	52
		krv	3 ml krvi s heparinom	diferencijalna pulsna polarografija uz elektrodu visece kapi kod $-0,8V$	13—28 $\mu g/100$ ml	53
		plazma	3 ml plazme	(uz prethodnu mineralizaciju uzorka ako se analizira krv)	3—55 $\mu g/100$ ml	53
		urin	24-satni urin		7—44 $\mu g/100$ ml	53
	dehidrataza δ -aminolevulininske kiseline (D-DALK)	krv	1 ml krvi s heparinom (odmah po hraniti na $+4^{\circ}C$)	spektrofotometrija obojenog kompleksa između inkubacijom ($37^{\circ}C$) nastalog porfobilinogena i p-dimetil-aminoben-zaldehida	> 26 jed/1 E	62
					> 90 jed/ml E	63*

Protoporfirin u eritrocitima (EP)	krv	7 ml krvi s heparinom ili s Na ₂ EDTA (zaštita od svjetla)	spektrofotometrija HCl-ekstrakta na karakterističnim valnim duljinama	20 ± 10 μg/100 ml E**	71
	krv	1 ml krvi s heparinom ili s Na ₂ EDTA (zaštita od svjetla)	spektrofluorometrija HCl-ekstrakta na karakterističnim valnim duljinama	47 ± 15 μg/100 ml E	72
	krv	0,5 ml krvi s heparinom ili s Na ₂ EDTA ili s Ca-oksalatom (zaštita od svjetla)	direktno očitavanje koncentracije cink-protoporfirina (ZPP) s pomoću hematofluorometra (»Bell-Aviv«)	52 ± 14 mg/100 ml E	73
				0,22 ± 0,046 mmol ZPP/mol Hb**	75
δ-aminolevulininska-kiselina (D-DALK)	urin	24-satni urin u tamnoj boci s dodatkom 75 mg vinske kiseline i 250 mg NaCl/100 ml urina	spektrofotometrija obojenog kompleksa između porfobilinogena nastalog kondenzacijom δ-aminolevulininske kiseline s acetyl-acetonom i p-dimetil-aminobenzaldehida uz prethodnu separaciju s ionskim izmjenjivačima	<0,60 mg/100 ml	79
	urin	24-satni urin u tamnoj boci	plinska kromatografija (6-amino-5-oksahexanoična kiselina kao interni standard) uz prethodnu kondenzaciju s acetyl-acetonom i metilacijom	nisu objavljene	80

Štetna tvar	Karakteristični pokazatelj	Biološki uzorak	Količina i priprema uzorka	Tehnika određivanja	Normalne vrijednosti	Litera- turni podatak
Olovo (organski spojevi tetraetil-olovo (C ₂ H ₅) ₄ Pb)	koproporfirini	urin	24-satni urin u tamnoj boci	fluorometrija H ₂ SO ₄ ek- strakta kod 365 nm (ek- scitacija)	< 241 μg/24 h (muškarci) < 220 μg/24 h (žene)	81
		urin	24-satni urin u tamnoj boci	spektrofotometrija HCl- ekstrakta na karakteri- stičnim valnim duljina- ma	76,2 ± 33,1 μg/24 h	82
		urin	24-satni urin u tamnoj boci s dodatkom Na ₂ CO ₃	tankoslojna kromato- grafija pročišćenog HCl- ekstrakta u atmosferi zasićenoj s amonijakom i uz primjenu smjese 2,6 lutidin-voda	68 ± 21 μg/24 h (ukupni) 14 ± 4 μg/24 h (izomer I) 77,4 ± 4,8 μg/24 h (izomer III)	83
	olovo	urin	24-satni urin	spektrofotometrija obo- jenog kompleksa s diti- zonom uz prethodnu mineralizaciju uzorka	< 110 μg/1000 ml	45 84
Živa (elementarna i anorganski spojevi žive)	živa	urin	24-satni urin s dodatkom 0,1 g kalijeva per- sulfata/100 ml urina	spektrofotometrija obo- jenog kompleksa s diti- zonom (difeniltiokarba- zon) (reverzijski postu- pak) uz prethodnu mi- neralizaciju uzorka, de- silaciju i apsorpciju Hg ²⁺	< 25 μg/24 h	90

Živa (organski spojevi)	urin	24-satni urin s dodatkom 5 g timola/100 ml urina	besplamena atomska spektrofotometrija (AAS) uz prethodnu mi- neralizaciju uzorka i re- dukciju Hg^{2+} u Hg^0	nisu objavljene	92	
	Metil-živa (CH_3Hg^+)	krv	5 ml krvi s heparinom	besplamena atomska apsorpcijska spektrofo- tometrija (AAS) uz pret- hodnu mineralizaciju uzorka i redukciju Hg^{2+} u Hg^0	< 10 $\mu g/100$ ml	93 94
	Etil-živa ($C_2H_5Hg^+$)	krv	5 ml krvi s heparinom	besplamena atomska apsorpcijska spektrofo- tometrija (AAS) uz pret- hodnu mineralizaciju uzorka i redukciju Hg^{2+} u Hg^0	< 10 $\mu g/100$ ml	94
	Fenil-živa ($C_6H_5Hg^+$)	krv	5 ml krvi s heparinom	besplamena atomska apsorpcijska spektrofo- tometrija (AAS) uz pret- hodnu mineralizaciju uzorka i redukciju Hg^{2+} u Hg^0	nisu objavljene	93
Fenil-živa ($C_6H_5Hg^+$)	urin	24-satni urin s dodatkom 0,1 kalijeva persulfata/100 ml urina	spektrofotometrija obo- jenog kompleksa s di- tizonom (difeniltiokar- bazon) (reverzijski po- stupak) uz prethodnu mineralizaciju, destila- ciju, i apsorpciju Hg^{2+}	nisu objavljene	90	
	urin	24-satni urin s dodatkom 5 g timola/100 ml urina	besplamena atomska apsorpcijska spektrofo- tometrija (AAS) uz pret- hodnu mineralizaciju uzorka i redukciju Hg^{2+} u Hg^0	nisu objavljene	93	

* Umjesto natrijeva karbonata pufera pH = 7,0 preporuča se fosfatni pufer pH = 6,8.

** Vrijednosti Kliničko-toksikološkog laboratorija IMI, Zagreb.

(uz tablicu I).

Opaska:

Laboratorijsko posude (epruvete, boce, pipete i sl.) koje služi za sakupljanje bioloških materijala za analizu metala i aktivnosti dehidrataze δ -aminolevulinske kiseline (D-DALK) mora biti oprano na ovaj način: Posude prethodno oprano tekućom vodom najprije se uroni kroz 24 h u kromsumpornu kiselinu, a zatim se ispere vrućom vodovodnom vodom. Nakon toga se opere vrućom otopinom (10%) natrijeve lužine, ispere destiliranom vodom, ponovo opere vrućom razrijeđenom (1:2) dušičnom kiselinom i na kraju dobro ispere redestiliranom vodom. Upotrijebljena redestilirana voda od zadnjeg pranja mora s otopinom ditizona (difeniltiokarbazon) dati negativnu reakciju na teške metale (žuto-zelena boja javlja se kod negativne reakcije, a već slabo ružičasta boja pokazuje prisustvo teških metala). Pri pranju je potrebno paziti da se ne hvataju prstima rubovi i drugi dijelovi posuda koji dolaze u direktan dodir s uzorkom.

Krv za analizu teških metala i aktivnosti dehidrataze δ -aminolevulinske kiseline (D-DALK) vadi se pomoću šprice s iglom, koja je iznutra polirana. U špricu su povuće oko 1 ml krvi da se ispere igla, zatim se šprica ukloni, a krv sakuplja direktno u epruvetu.

Urin se sakuplja u bocama sa širokim grlom i čepom (boce za prah ili plastične kantice od oko 2000 ml.). Pri otvaranju posude i pri uriniranju ne smiju se dodirivati prstima rubovi koji dolaze u direktan dodir s uzorkom. Čep boce treba uvijek odložiti na gornju stranu da se izbjegne vanjska kontaminacija.

Tablica 2.

Kemijski tekstovi kod ekspozicije nemetalima, anorganskim i organskim spojevima nemetala

Štetna tvar	Karakteristični pokazatelj	Biološki uzorak	Količina i priprema uzorka	Tehnika određivanja	Normalne vrijednosti	Litera- turni podatak
Arsen	arsen	urin	24-satni urin s dodatkom 0,1 g Na ₂ EDTA	spektrofotometrija obojenog arsen-molibden-skog kompleksa uz prethodno oslobađanje arsena, koji se pretvara u arsenovodik i oksidira u arsenov trioksid	nisu objavljene	96
		urin	24-satni urin s dodatkom 0,1 g Na ₂ EDTA	spektrofotometrija obojenog kompleksa između arsina i srebrnog dietiliditiokarbamata u piridinu uz prethodnu mineralizaciju uzorka i oslobađanje arsina	nisu objavljene	97
		urin	24-satni urin s dodatkom 0,1 g Na ₂ EDTA	atomska apsorpcijska spektrofotometrija uz prethodnu mineralizaciju uzorka i oslobađanje arsina	nisu objavljene	98
		urin	20 ml od jednokratnog uzorka urina	kolorimetrija obojenog kompleksa između arsina i srebrnog dietiliditiokarbamata u piridinu uz prethodnu mineralizaciju uzorka i oslobađanje arsina	nisu objavljene	99

Štetna tvar	Karakteristični pokazatelj	Biološki uzorak	Količina i priprema uzorka	Tehnika određivanja	Normalne vrijednosti	Litera- turni podatak
Cijanovodična kiselina (HCN), cijanidi (NaCN, KCN) i alifatski nitrili	tiocijanati	urin	24-satni urin	spektrofotometrija obojenog kompleksa između cijanogen-bromida, piridina i benzidina uz prethodno pretvaranje cijanida u cijanogen-bromid s pomoću broma	nisu objavljene	102
		urin	24-satni urin	spektrofotometrija obojenog kompleksa između cijanogen-bromida, piridina i p-fenilen-diamina uz prethodno pretvaranje cijanida u cijanogen-bromid s pomoću broma	nisu objavljene	103
		plazma	5 ml krvi		1,2—2,9 mg/l	103
Fluor	fluor	urin	24-satni urin	potencijometrija razrijeđenog puferiranog uzorka s pomoću fluoridne specifične ionske elektrode	nisu objavljene	105
Ugljični bisulfid	tiourea (A), 5-merkaptotiazolinom (B) i ditiokarbaminska kiselina (C)	urin	24-satni urin	kronometrija iščezavanja boje joda pod djelovanjem metabolita (A + B + C)	C, logt < 6,5 (C = konc. kreatinina $\mu\text{g}/1000\text{ ml}$; t = vrijeme iščezavanja boje joda izraženo u sek.)	110

Ugljični monoksid	karbonil-hemoglobin (karboksihemoglobin) fenol	krv	1 ml krvi s heparinom	diferencijalna spektrofotometrija razrijeđenog uzorka s 0,04% ^g -tnim amonijakom na karakterističnim valnim duljinama	0,5 ± 0,2% COHb**	111
		krv	1 ml krvi s heparinom	spektrofotometrija razrijeđenog uzorka s 0,4% ^g -tnim amonijakom na karakterističnim valnim duljinama	0% COHb	112
		krv	1 ml krvi s heparinom	mikrodifuzija i titracija oslobođene solne kiseline	< 1% COHb	113

** Vrijednosti Kliničko-toksikološkog laboratorija IMI, Zagreb.

Tablica 3
Kemijski testovi kod ekspozicije aromatskim ugljikovodinicima

Štetna tvar	Karakteristični pokazatelji	Biološki uzorak	Količina i priprema uzorka	Tehnika određivanja	Normalne vrijednosti	Litera-turna podataka
Benzen	fenol	urin	24-satni urin	spektrofotometrija obojenog kompleksa s diazotiranim p-nitroanilinom uz prethodnu destilaciju uzorka vode- nom parom plinska kromatografija (fenol kao interni stan-dard) uz prethodnu hi-drolizu konjugiranih fe-nola vizuelna ocjena intenzi-teta plave boje nastale reakcijom između feno-la i 2,6-diptorkinom.4-klorimida titrimetrija istaloženih sulfata s pomoću 0,1 N natrijeve lužine	30±23 mg/1000 ml	116
		urin	24-satni urin		5 mg/1000 ml (prosječna vrijednost u grupi od 20 ispitnika)	117
		urin	24-satni urin ili jednokratni uzorak urina		test ne smije pokazati plavu boju	118
	omjer anorganskih i organskih sulfata	urin	24-satni urin	titrimetrija istaloženih sulfata s pomoću 0,1 N natrijeve lužine	>85% (anorganski sulfati/ organski sulfati)	119
Ksilen	metilhipurna kiselina	urin	24-satni urin	spektrofotometrija obojenog azlaktona nastalog reakcijom metilhipurne kiseline s p-dime-tilaminobenzaldehidom ili s benzensulfonilklo-ridom, uz prethodnu separaciju tankosloj- nom kromatografijom	nisu objavljene	120

Stiren	bademova kiselina i fenilglioksilna kiselina	urin	24-satni urin	spektrofotometrija obo- jenog kompleksa sa smjesom sumporne ki- seline i formalina uz prethodnu separaciju tankoslojnom kromato- grafijom	47—178 mg/1000 ml	125
		urin	24-satni urin	plinska kromatografija (heptadekanoična kise- lina kao interni stan- dard) uz prethodnu ek- strakciju i metilaciju	11—34 mg/100 ml < 10 mg/1000 ml bademova kise- lina + fenil- glioksilna kiselina)	125 126
Toluen	hipurna kiselina	urin	24-satni urin	spektrofotometrija obo- jenog azlaktona nasta- log reakcijom hipurne kiseline s p-dimetilami- nobenzaldehidom ili s benzensulfonilkloridom uz prethodnu separaci- ju tankoslojnom kroma- tografijom	nisu objavljene	119
		urin	24-satni urin	ultravioleina spektrofo- tometrija eterskog eks- trakta hipurne kiseline uz prethodnu ekstrakci- ju kiselog uzorka smje- som izopropil alkohola i etera	0,4—1,4 g/l	121

Tablica 4
 Kemijski testovi kod ekspozicije halogeniranim ugljikovodjcima

Štetna tvar	Karakteristični pokazatelj	Biološki uzorak	Količina i priprema uzorka	Tehnika određivanja	Normalne vrijednosti	Litera- turni podatak
1,1,1-tri- klore tan	trikloroctena kiselina i triklore tanol	urin	24-satni urin	spektrofotometrija obo- jenog spoja s piridinom u alkalnom mediju uz prethodnu oksidaciju triklorospojeva u tri- kloroctenu kiselinu	0,13±0,22 mg/1000 ml (muškarci) 0,08±0,19 mg/1000 ml (žene) 0,03±0,05 mg/1000 ml (muškarci) 0,03±0,04 mg/1000 ml (žene)	129, 131
1,1,1,2-tetra- klore tan	"	"	"	"	"	"
1,1,2,2-tetra- klore tan	"	"	"	"	"	"
1,2,2-triklor- etilen	"	"	"	"	"	"
1,1,2,2-tetra- klore tilen	"	"	"	"	"	"

1,1,1-tri- kloretnan	trikloroetena kiselina i trikloretnanol	urin	24-satni urin	plinska kromatografija (1,3-dibromopropan kao interni standard) uz prethodnu ekstrakciju i metilaciju, kao i hidrolizu glukuronida	nisu objavljene	132
1,1,1,2-tetra- kloretnan	"	"	"	"	"	"
1,1,2,2-tetra- kloretnan	"	"	"	"	"	"
1,2,2-triklor- etilen	"	"	"	"	"	"
1,1,2,2-tetra- kloretilen	"	"	"	"	"	"
Vinil-klorid (2-kloretilen)	S-karboksimetil- cistein	urin	24-satni urin	kromatografija s pomo- ću analizatora za ami- nokiseline	nisu objavljene	136
	tiodiglikolna kiselina	urin	24-satni urin	plinska kromatografija uz prethodnu esterifika- ciju	nisu objavljene	136

Tablica 5
Kemijski testovi kod ekspozicije alkoholima, fenolu i etilen glikolu

Štetna tvar	Karakteristični pokazatelj	Biološki uzorak	Količina i priprema uzorka	Tehnika određivanja	Normalne vrijednosti	Literaturni podatak
Etanol	etanol	krv	2 ml krvi s na- trijevim fluo- ridom treba dobro izmiješati (oko 0,01 g NaF/1 ml krvi)	titracija kalijevim bi- kromatom destilacijom oslobođenog alkohola i jodometrijska titracija suviška kalijevog bikro- mata	nisu objavljene	138
Etilen glikol (1,2-etandiol)	hipurna kiselina*					
	oksalna kiselina	urin	24-satni urin	spektrofotometrija obo- jenog kompleksa glikol- ne kiseline s kromotrop- nom kiselinom uz pret- hodnu ekstrakciju, pre- cipitaciju i redukciju oksalne kiseline	9,0—23,8 mg/24 h	140
		urin	24-satni urin	fluorometrija konden- zacijskog produkta gli- ksilnog aldehida s re- zorcinolom kod 490 nm (ekscitacija) uz prethod- nu ekstrakciju, precipi- taciju i redukciju oksal- ne kiseline	9,0—28,5 mg/24 h	141
		krv	3 ml		200—320 mg/100 ml	141
		serum	3 ml		135—280 mg/100 ml	141

Fenol	fenol** odnos anorganskih i organskih sulfata***	metanol	krv	5 ml krvi s natrijevim fluoridom treba dobro izmiješati (oko 0,01 g NaF/1 ml krvi)	24-satni urin	spektrofotometrija obojenog spoja između oksidacijom nastalog formaldehida i sulfite otporne fukksina (Schiffov reagens) uz prethodnu destilaciju uzorka vodenom parom	144
Metanol			urin				
			krv	5 ml krvi s natrijevim fluoridom treba dobro izmiješati (oko 0,01 g NaF/1 ml krvi)	24-satni urin	mikrodifuzija i spektrofotometrija kompleksa između kromotropne kiseline i oksidacijom nastalog formaldenida	145
		mravlja kiselina	urin	24-satni urin			
			urin	24-satni urin		spektrofotometrija obojenog kompleksa formaldehida s kromotropnom kiselinom uz prethodnu redukciju mravlje kiseline	146

* vidi određivanje hipurne kiseline kod ekspozicije toluenu (tablica 3)

** vidi određivanje fenola kod ekspozicije benzenu (tablica 3)

*** vidi određivanje omjera anorganskih i organskih sulfata kod ekspozicije benzenu (tablica 3)

Tablica 6
Kemijski testovi kod ekspozicije amino i nitro spojevima

Štetna tvar	Karakteristični pokazatelj	Biološki uzorak	Količina i priprema uzorka	Tehnika određivanja	Normalne vrijednosti	Literaturni podatak
Anilin	methemoglobin	krv	1 ml krvi s heparinom	spektrofotometrija met-hemoglobina na karakterističnoj valnoj duljini uz računsku korekciju za sulfhemoglobin i oksihemoglobin	< 1% MethHb*	147
		krv	1 ml krvi s heparinom	spektrofotometrija razrijeđenog uzorka s 0,4% _{v/v} -tnim amonijakom na karakterističnim valnim duljinama	0% MethHb	148
	p-aminofenol	urin	24-satni urin	spektrofotometrija indofenske boje nastale reakcijom p-aminofenola s fenolom i natrijevim hipobromitom	< 40 mg/100 ml	149
Nitrobenzen	methemoglobin	krv	1 ml krvi s heparinom	spektrofotometrija met-hemoglobina na karakterističnoj valnoj duljini uz računsku korekciju za sulfhemoglobin i oksihemoglobin	< 1% MethHb*	147
		krv	1 ml krvi s heparinom	spektrofotometrija razrijeđenog uzorka s 0,4% _{v/v} -tnim amonijakom na karakterističnoj valnoj duljini	0% MethHb	148

p-nitrofenol	urin	24-satni urin	spektrofotometrija alkalnog metil-alkoholnog eluata uz prethodnu separaciju tankoslojnom kromatografijom	nisu objavljene	150
Trinitrotoluen	methemoglobin	krv	1 ml krvi s heparinom	< 1% MetHb*	147
	sulfhemoglobin	krv	1 ml krvi s heparinom	0% SHb	147
	2,6-dinitro-4-aminotoluen	urin	24-satni urin	nisu objavljene	147
		urin	24-satni urin	test ne smije pokazati crveni prsten	151

* Vrijednosti Kliničko-toksikološkog laboratorija IMI, Zagreb.

na mogućnost kontaminacije uzorka otpuštanjem kroma iz kromiranih dijelova pribora za vađenje krvi.

Najviše mangana izlučuje se stolicom (36), ali se za analizu (vjerojatno zbog neugodnosti rada s tim materijalom) obično upotrebljava mokraća. Koncentracija mangana u urinu može se odrediti plamenom (37) i besplamenom (38) AAS tehnikom. Mangan se određuje i u serumu, i to vrlo uspješno besplamenom AAS (34, 38) tehnikom. Kod ekspozicije organskom spoju mangana metilciklopentadienil manganovom trikarbonilu (MMT) treba određivati koncentraciju mangana u mokraći (39).

S toksikološkog aspekta i po broju eksponiranih radnika, čini se da je među metalima olovo još uvijek najvažnije. Povećana apsorpcija olova može se pratiti preko više pokazatelja. Određivanje koncentracije olova u krvi specifičan je test kojim se potvrđuje ekspozicija, ali se tim testom kao izoliranim pokazateljem ne može odrediti i stupanj oštećenja organizma (40, 41). Olovo u mokraći neobično je važno za praćenje djelatnosti liječenja s Na_2CaEDTA , ali nema nikakvo značenje kao rani test ekspozicije olovu anorganskog porijekla. Naprotiv, kod ekspozicije organskom spoju olova tetraetil-olovu, određivanje koncentracije olova u mokraći je vrlo dobar pokazatelj povećane apsorpcije (42). Koncentracija olova u krvi može se vrlo točno i brzo odrediti besplamenom AAS prema *Fernandezovoj* metodi (43). Ta je metoda provjerena i nešto modificirana u našem laboratoriju (44). Ditizonska metoda studiozno razrađena od suradnika našeg Instituta (45, 46) također je dobro izabrana metoda za određivanje olova u krvi, a njome se uspješno određuje i olovo u mokraći. Kao gornja dopuštena koncentracija u mokraći može se smatrati koncentracija od $80 \mu\text{g}/1000 \text{ ml}$ (47). Od drugih metoda za određivanje olova u biološkom materijalu treba istaći uobičajenu (48, 49) i modificiranu (50, 51) plamenu AAS metodu, te elektrolitičke metode kao što su polarografija (52) i diferencijalna pulsna polarografija uz elektrodu viseće kapi (53). I pored relativno dugog iskustva u određivanju olova u krvi analize nisu uvijek točne, što je upravo za taj metal i dokazano interlaboratorijskim kontrolama (5, 6, 54, 55). Posebno treba paziti na mogućnost kontaminacije biološkog uzorka za vrijeme vađenja krvi i u toku analize. Temperatura mineralizacije biološkog uzorka (suho i mokro spaljivanje) ne smije biti viša od 500°C zbog mogućnosti gubitka olova.

Određivanje inhibicije aktivnosti dehidrataze δ -aminolevulinske kiseline (D-DALK) u eritrocitima može se za sada smatrati najosjetljivijim testom ekspozicije olovu. U stanovnika gradova koji su izloženi vrlo niskim koncentracijama olova utvrđena je negativna korelacija između aktivnosti D-DALK i koncentracije olova u krvi (56, 57) i čini se da nema tako niske koncentracije olova u krvi koja ne bi utjecala na taj enzim. Kod teškog otrovanja olovom aktivnost D-DALK je u tolikoj mjeri inhibirana da je nemoguće odrediti stupanj apsorpcije olova, jer je već prije postignuta najniža granica u blizini detekcijske granice metode. Aktivnost D-DALK jednom inhibirana olovom treba dosta vremena za spontanu reaktivaciju (58, 59), pa se tom analizom može dokazati pove-

ćana ekspozicija olovu u prošlosti. Kod ekspozicije tetraetilolovu aktivnost D-DALK može biti također inhibirana (60, 61). Određuje se spektrofotometrijski mjerenjem intenziteta obojenog kompleksa između inkubacijom (37° C) nastalog porfobilinogena i p-dimetil-aminobenzaldehida. Preporučuje se standardizirana metoda od *Berlina* i *Schallera* (62) kao i metoda *Bonsignorea* i suradnika (63) u kojoj je karbonatni pufer pH 7,0 zamijenjen fosfatnim puferom pH 6,8. Analizu D-DALK treba izvršiti do dva sata nakon vađenja krvi iz uzorka koji je pohranjen na 4° C. Ako se iz objektivnih razloga analiza ne može izvršiti u tom intervalu tada rezultate treba korigirati (64) imajući u vidu da se predložena korekcija ne može primijeniti za krv koja je bila pohranjena na sobnoj temperaturi ili na 4° C duže od 24 sata. Akutni i kronični alkoholizam može utjecati na smanjenje aktivnosti D-DALK-a (65, 66).

Povećana koncentracija eritrocitnih protoporfirina (EP) pojavljuje se 1—3 mjeseca nakon ekspozicije olovu (67) i zadržava relativno dugo poslije prekida ekspozicije (68—70). Prednost je da se određivanjem koncentracije protoporfirina u eritrocitima periferne krvi utvrđuje stupanj djelovanja olova na hematopoezu u koštanoj srži. Nedostatak je nespecifičnost, jer i neke druge bolesti (anemije uzrokovane deficitom željeza i eritropoetske protoporfirije) također uzrokuju povećanu koncentraciju EP. Pored toga analiza traje prilično dugo i vrlo je osjetljiva na utjecaj svjetla. Koncentracija EP može se odrediti spektrofotometrijom (71) i spektrofluorometrijom (72, 73) protoporfirinskog ekstrakta sa solnom kiselinom na karakterističnim valnim duljinama. *Lamola* i *Yamane* (74) dokazali su s pomoću fluorometrijskih parametara da su eritrocitni protoporfirini kod otrovanja olovom i kod anemija uzrokovanih deficitom željeza vezani s cinkom u obliku cink-protoporfirina (ZPP). To je potaklo istraživače da konstruiraju instrument s pomoću kojeg se može direktno odrediti ZPP (75). Takvom se analizom značajno skraćuje vrijeme (76), što je jedan od nedostataka klasičnih metoda. Korelacija između direktne metode određivanja ZPP i spektrofluorometrijske metode je veoma dobra ($r = 0,98$) (76). Protoporfirin je, slično kao i drugi porfirini, fotosenzibilna tvar, pa se uzorak krvi mora skupiti u epruvetu koja je zamotana u crni papir. Analizu treba obaviti u prostoru zaštićenom od izravne sunčane svjetlosti.

Određivanje koncentracije δ -aminolevulininske kiseline (DALK) i koproporfirina u mokraći također su korisni testovi u dijagnostici otrovanja olovom. Mala je prednost što posude u kojem se skuplja mokraća za te analize ne podliježe specijalnom pranju. Oba testa nisu specifična za olovo jer i druge bolesti, među kojima treba naročito istaći neke vrste porfirija, uzrokuju izlučivanje DALK-a i koproporfirina. Ipak se smatra da je za olovo određivanje DALK-a specifičnije negoli koproporfirini (77), a uz to je DALK i osjetljiviji test od koproporfirina (78). Koncentracija DALK-a može se odrediti standardiziranom spektrofotometrijskom metodom (79) ili s pomoću plinske kromatografije (80). Koproporfirini se mogu odrediti fluorometrijski (81) i spektrofotometrijski (82). Za separaciju izomera I i III može se preporučiti tankoslojna kromatografija

(83). Analizu DALK-a i koproporfirina treba obaviti u što kraćem roku nakon skupljanja mokraće. Ako to nije moguće, mokraća se prema potrebi zakiseli (pH 6—7) solnom kiselinom i pohrani na 4° C (ne duže od 2 tjedna) ili na -20° C (ne duže od 1 mjesec).

Kod ekspozicije tetraetil-olovu obavezno treba odrediti olovo u mokraći. Prema preporuci Američkog udruženja za industrijsku higijenu dopuštena koncentracija olova u mokraći kod ekspozicije tetraetil-olovu je < 110 µg/1000 ml (84). Ostali testovi koji su opisani kod anorganskog olova i spojeva mogu se primijeniti i kod tetraetil-olova, ali je njihova dijagnostička vrijednost manja od određivanja koncentracije olova u mokraći.

Ekspozicija elementarnoj živi i anorganskim spojevima žive dokazuje se određivanjem koncentracije žive u mokraći. U stvari su frakcije izlučivanja žive mokraćom i stolicom slične (85), ali se stolica rijetko ispituje. Analiza žive u krvi je dijagnostički manje vrijedna jer se anorganska živa zadržava u krvi relativno kratko vrijeme nakon prekida ekspozicije. Suprotno od toga kod ekspozicije organskom spoju metil-žive preporučuje se analiza žive u krvi i u eritrocitima (86), a ne u mokraći (87) jer se metil-živa sporo metabolizira. Slično je i kod etil-žive, a eksperimentalno je dokazano da se kod ekspozicije etil-živi više žive izluči mokraćom nego kod izloženosti metil-živi (88). Fenil-živa je značajno manje proučena od alifatskih živinih spojeva, pa se poznavanje biotransformacije uglavnom temelji na eksperimentalnim rezultatima. Na početku ekspozicije fenil-živa se raspoređuje na način koji je sličan distribuciji alkilnih živinih spojeva, a kasnije sve više slični distribuciji anorganskih živinih spojeva (89). Slično je i s eliminacijom, pa zato na početku ekspozicije treba analizirati krv, a kasnije i mokraću.

Koncentracija žive u biološkom materijalu može se odrediti spektrofotometrijski, s pomoću AAS i analizom neutronske aktivacije. Među spektrofotometrijskim analizama može se preporučiti ditizonska reverzijska metoda razrađena od suradnika našeg Instituta (90). Postoji nekoliko načina određivanja žive AAS tehnikom koji se mogu svrstati u dvije skupine, ovisno o tome da li se biološki uzorak direktno injicira u instrument ili se prethodno mineralizira uz redukciju Hg²⁺ u Hg⁰ s pomoću stanum klorida. Živa iz mokraće može se prethodno izolirati ekstrakcijom s amonijevim pirolidin ditiokarbamatom (APDK) i metilizo-butilketonom (MIBK) (91). Besplamena AAS je osobito prikladna metoda za određivanje žive u mokraći i krvi (92, 93). Metoda neutronske aktivacije je vrlo osjetljiva i specifična, ali zahtijeva skupu opremu pa se zato može primijeniti samo u dobro opremljenim laboratorijima.

Normalna koncentracija žive u mokraći za anorgansku živu i spojeve ne bi smjela biti viša od 25 µg/24 h. Prema zaključku stručnjaka međunarodnog komiteta (94) gornja granica normale za metil i etil-živu u krvi je 10 µg/100 ml.

Kod analize žive naročito je važno da se analiza izvrši što prije nakon sakupljanja biološkog uzorka, jer djelovanjem bakterija dolazi do redukcije Hg²⁺ u Hg⁰ (95), te gubitka žive zbog lake hlapljivosti. Dodatak

konzervansa (kalijev persulfat, timol, toluen, sumporna kiselina) sprečava stvaranje bakterija, ali ne za duže vrijeme. Živine pare difundiraju kroz plastični materijal i absorbiraju se na stijenkama. Zato biološki materijal za analizu žive treba skupiti u staklenom posuđu koje je naročitim pranjem oslobođeno teških metala.

Kod ekspozicije nemetalima te njihovim anorganskim i organskim spojevima karakteristični pokazatelji u krvi i u mokraći mogu se istraživati s više različitih tehnika (tablica 2).

Ekspozicija arsenu i derivatima utvrđuje se analizom arsena u mokraći. Arsen u kosi ne treba određivati kod profesionalne ekspozicije arsenu jer se ne može razlučiti koji se dio koncentracije arsena odnosi na endogenu apsorpciju, a koji je dio arsena egzogeno deponiran u strukturu vlasi. Koncentracija arsena može se odrediti spektrofotometrijski (96, 97) i s pomoću AAS tehnike (98). U uvjetima rada na terenu preporučljiva je metoda *Lambertona* i suradnika (99). Normalna koncentracija arsena u urinu je manja od 100 $\mu\text{g/l}$ (100).

Kod ekspozicije cijanovodičnoj kiselini i njenim spojevima povećava se koncentracija tiocijanata u plazmi i u urinu. Prema *El Ghawaliju* i suradnicima (101) odnos između koncentracije tiocijanata izlučenih urinom u 24 sata i koncentracije cijanida u zraku je linearan. Koncentracija tiocijanata u plazmi i u mokraći određuje se spektrometrijski (102, 103). Normalna koncentracija tiocijanata u mokraći je 1,2–2,9 mg/l (102). Pušači izlučuju veće količine, jer duhanski dim sadržava cijanovodičnu kiselinu.

Fluoridi su značajna noksa u tehnologiji aluminijske industrije. Najbolji pokazatelj povećane apsorpcije fluorida je direktno određivanje fluorida u mokraći (104) s pomoću ion selektivnih elektroda (105). Prema *Eagersu* (106) gornja dopuštena granica kod profesionalne ekspozicije fluoridima je 4 mg/l. Fiziološki se izlučuje 0,5 mg fluorida/l.

Metabolički produkti ugljikovog bisulfida su tio-urea, 5-merkaptotiazolinon i ditiokarbaminska kiselina (107–109). Ti su metaboliti vjerojatno katalizatori osjetljivog jodazidnog testa (110) kojim se utvrđuje ekspozicija ugljikovu bisulfidu. Prema preporuci autora, ekspozicijski koeficijent E, koji je funkcija umnoška koncentracije metabolita i logaritma vremena nestajanja boje joda ne smiju biti veći od 6,5, a ta vrijednost odgovara ekspoziciji od 20 ppm CS_2 u zraku. Ditiokarbamatni fungicidi («Tiram», «Ziram»), antabus i merkaptobenzoimidazol utječu na reakciju.

Toksični učinak ugljikovog monoksida je najvećim dijelom uzrokovan kemijskom reakcijom ugljikovog monoksida s hemoglobinom, jer nastali spoj karbonilhemoglobin (karboksihemoglobin) (COHb) ne može prenositi kisik. Iako ugljikov monoksid reagira i s drugim hemoproteinima (mioglobin, citokrom a_3 i P_{450}), većina ugljikovog monoksida vezana je na hemoglobin, pa je zato poznavanje koncentracije COHb najvažniji pokazatelj u ocjeni apsorpcije ugljikovog monoksida. COHb određuje se mnogim metodama. U tablici 2 izabrane su samo one metode (111–113) čija je točnost provjerena u našem laboratoriju i koje zadovo-

Ijavaju većinu kriterija za toksikološku analizu. Koncentracije COHb do 1% fiziološki su normalne. U cigaretnom dimu nalazi se oko 4% ugljikovog monoksida i zato je koncentracija COHb kod pušača značajno povišena. Krv za analizu COHb treba uzeti prije davanja kisika. Eliminacija ugljikovog monoksida iz organizma je funkcija pCO gradijenta između krvi i zraka. U stanju mirovanja vrijeme poluizlučivanja ugljikovog monoksida udisanjem čistog zraka je 128—409 minuta s prosječkom od 320 minuta, a udisanjem čistog kisika smanjuje se na 80 minuta (114).

Benzen, toluen, ksilen i stiren su aromatski ugljikovodici koji se najviše upotrebljavaju u industriji. Svaki od njih se u organizmu metabolizira i njihovi su metaboliti karakteristični pokazatelji povećane apsorpcije (tablica 3).

Glavni metaboliti benzena su fenol i fenolni konjugati. Prema dosadašnjim iskustvima određivanje fenola u mokraći najbolji je pokazatelj ekspozicije benzenu. *Docter i Zielhuis* (115) našli su da je kod ekspozicije samo 10 ppm benzena u zraku koncentracija fenola u mokraći nakon osam sati rada bila 70 mg/l, dok je omjer anorganskih sulfata prema organskim sulfatima ostao praktički nepromijenjen. Fenol se može odrediti kvantitativno (116, 117) i semikvantitativno (118). Omjer između anorganskih i organskih sulfata u mokraći određuje se titrimetrijski (119).

Metabolizam toluena i ksilena je vrlo sličan. Toluen se metabolizira u benzojevu kiselinu koja s glicinom stvara hipurnu kiselinu, a ksilen se po istom principu pretvara u metil-hipurnu kiselinu. Oba se metabolita mogu odrediti istom metodom (120) kad se prethodno razdvoje tankoslojnom kromatografijom. Za hipurnu kiselinu se može preporučiti i još jedna spektrofotometrijska metoda u kojoj se ekstrahirana hipurna kiselina određuje mjerenjem apsorbancije kod 230 nm (121). Korelacija između ekspozicije toluena i koncentracije hipurne kiseline značajna je (121—123), kao i između ekspozicije ksilena i koncentracije metil-hipurne kiseline (123). Normalna koncentracija hipurne kiseline varira, dok metil-hipurna kiselina nije prisutna (124).

Stiren se pretežno metabolizira u bademovu i fenilglioksilnu kiselinu. Oba se metabolita mogu odrediti iz mokraće spektrofotometrijski (125) ili s pomoću plinske kromatografije (126). Zadržavanje fenilglioksilne kiseline je duže od bademove kiseline i ono je funkcija intenziteta ekspozicije stirenu (127). Osim analize svakog metabolita posebno, preporučuje se i određivanje kvocijenta bademove i fenilglioksilne kiseline (127).

U skupini halogeniranih ugljikovodika klorirani ugljikovodici su najbrojnije zastupljeni. To su klorovi derivati metana, etana i etilena (tablica 4).

Tetraklormetan (tetraklorugljik) izlučuje se većinom u izdahnutom zraku i nema svog specifičnog metabolita. S obzirom na njegovo hepato-renalno djelovanje ekspozicija se indirektno utvrđuje određivanjem aktivnosti nekih enzima i drugih funkcionalnih testova, što nije područ-

je toksikološke, već kliničke kemije. Tetraklormetan u izdahnutom zraku rjeđe se određuje jer je za tu analizu potrebna naročita oprema, a rezultat je veoma ovisan o dužini vremena od prekida ekspozicije do analize.

I kod ekspozicije kloroformu više se primjenjuju testovi kliničke kemije nego što se određuje koncentracija u izdahnutom zraku.

Klorovi spojevi etana i etilena kao što su 1,1,1-trikloreten, 1,1,1,2-tetrakloreten, 1,1,2,2-tetrakloreten, 1,2,2-trikloreten i 1,1,2,2-tetrakloretilen metaboliziraju se u trikloroetenu kiselinu i trikloretenol (128). Među njima je najvažniji 1,2,2-trikloretilen zbog vrlo široke i česte primjene. Za određivanje trikloroetene kiseline i trikloretenola razrađeno je više tehnika. *Tanaka* i *Ikeda* (129) modificirali su spektrofotometrijsku metodu *Seta* i *Schultzea* (130) koja se temelji na *Fujiwarin*oj reakciji. Potrebno je odrediti ukupne trikloro-spojeve i trikloroetenu kiselinu, a trikloretenol se određuje iz razlike. *Immamura* i *Ikeda* (131) su još bolje modificirali tu metodu da bi skratili vrijeme analize. Nedostatak je te metode što osim trikloro-spojeva i druge kromoforne tvari normalno prisutne u biološkom uzorku mogu interferirati. Zato su metode plinske kromatografije u prednosti. Među njima može se preporučiti metoda *Huberta* i *Fernandeza* (132). S pomoću plinske kromatografije moguće je odrediti oba metabolita u krvi, a opisana je i metoda za određivanje trikloretilena u krvi (133). Kod ekspozicije dobrovoljaca niskim koncentracijama trikloretilena utvrđeno je da kratko vrijeme poslije ekspozicije koncentracija trikloretenola doseže u mokraći maksimalnu vrijednost i zadržava se na istom nivou, a koncentracija trikloroetene kiseline se povećava postepeno (134). *Müller* i suradnici (135) našli su da je poluživot trikloroetene kiseline duži od poluživota trikloretenola, jer se trikloroetena kiselina veže na proteine plazme. Zato je određivanje koncentracije trikloretenola vrlo korisno kad se određuje ekspozicija trikloretilenu kroz kratko vrijeme, a za duži period ekspozicije određivanje trikloroetene kiseline je u prednosti. Ipak prevladava mišljenje da bez obzira na ekspoziciju treba analizirati oba metabolita.

Biotransformacija vinilklorida je dosta složena. Prvo se stvara kloroetilenoksid, a daljnjom pretvorbom nastaju kloretenol, kloroacetaldehid i kloroetena kiselina. Uz prisutnost cisteina konačni produkti metabolizma su S-karboksimetilcistein i tioglikolna kiselina. Oba se metabolita mogu odrediti u mokraći kromatografski, prvi s pomoću kromatografskog analizatora za amino-kiseline, a drugi s pomoću plinske kromatografije (136).

Kemijski testovi kod ekspozicije alkoholima, fenolu i etilenglikolu prikazani su u tablici 5.

Etanol se određuje u krvi s pomoću *Widmarkove* metode (137). U nas je *Zelenko* (138) potanko razradio tu metodu i preporučljivo je tu analizu izvoditi prema njegovim uputama. Metoda određivanja etanola preko alkoholne dehidrogenaze vrlo je specifična, ali zahtijeva dosta skupe reagensije. Plinska kromatografija je također vrlo dobra tehnika i takvu analizu mogu izvoditi dobro opremljeni laboratoriji.

Etilen glikol izlučuje se mokraćom nepromijenjen ili u obliku metabolita hipurne kiseline, benzojeve i oksalne kiseline (139). Hipurna se kiselina može odrediti spektrofotometrijom u vidljivom (119) i ultravioletnom području (121) kao što je već opisano kod ekspozicije toluenu. Benzojeva se kiselina rijetko analizira, ali se zato često određuje koncentracija oksalne kiseline, koja se može odrediti spektrofotometrijski (140) i fluorometrijski (141). Oksalna se kiselina može odrediti u krvi, odnosno u serumu, a za taj biološki uzorak obično se primjenjuje fluorometrijska metoda (141).

Većina fenola apsorbirano preko pluća i preko kože izluči se u jednom danu (142). Za određivanje fenola mogu se upotrijebiti isti testovi (116—119) koji su opisani kod ekspozicije benzenu.

Metanol se može dokazati u krvi i u mokraći. Iako se metoda plinske kromatografije može vrlo dobro primijeniti za metanol (143), u našim uvjetima više se primjenjuju spektrofotometrijske metode. Među njima je vrlo jednostavna ona sa Schiffovim reagensom (144), a preporučuje se metoda u kojoj se metanol oksidira po sistemu uređaja za mikrodifuziju (145). Glavni metabolit metanola je formaldehid, koji se oksidira u mravlju kiselinu, pa se analizom mravlje kiseline u urinu može također utvrditi povećana ekspozicija metanolu. Mravlja se kiselina može odrediti spektrofotometrijski prema *Grantovoj* metodi (146) koja je vrlo specifična i osjetljiva.

Među amino i nitro-organskim spojevima u industrijskoj toksikologiji najvažniji su anilin, nitrobenzen i trinitrotoluen (tablica 6). Sva tri spoja su stvaraoci methemoglobina (MetHb), a trinitrotoluen uzrokuje i stvaranje sulfhemoglobina (SHb). MetHb i SHb se određuju spektrofotometrijski i preporučuje se metoda *Evelyn Malloy* detaljno razrađena od *Henryja* (147). Za brzo određivanje MetHb može se primijeniti *Heilmeyerova* metoda (148) ali treba znati da je ta metoda manje precizna od metode *Evelyn Malloy*. Općenito se smatra da je koncentracija MetHb do 1% normalna. Upotreba nekih lijekova koji sadržavaju amino i nitro-spojeve povećavaju koncentraciju MetHb, što je važan podatak za ocjenu stvarne profesionalne ekspozicije.

Kod ekspozicije anilinu određivanje glavnog metabolita p-aminofenola posebno je važna analiza za utvrđivanje stupnja ekspozicije. *Dubachova* metoda (149) razrađena za dokazivanje p-aminofenola kod prekomjernog uzimanja fenacetinskih preparata može se uspješno primijeniti i za dokazivanje p-aminofenola kao metabolita anilina.

Glavni metabolit nitrobenzena je p-nitrofenol koji se može odrediti spektrofotometrijski uz prethodnu separaciju tankoslojnom kromatografijom (150).

Trinitrotoluen se biotransformira u 2,6-dinitro-4-aminotoluen, koji se može dokazati kvantitativno (151) i kvalitativno (152).

U zaključku ovog prikaza treba istaći da su toksikološkokemijske analize u stalnom razvitku, jer je sve više novih tvari koje se rabe u suvremenoj tehnologiji, a među njima nije malen broj toksičnih. Zato

stručnjaci toksikološke kemije treba da prate stručnu literaturu i redovno objavljuju rezultate razrađenih metoda za nove profesionalne nokse.

Izvođenje toksikološkokemijskih analiza je vrlo odgovoran i složen zadatak, pa stručno osoblje u toksikološkokemijskim laboratorijima treba imati solidnu naobrazbu iz analitičke kemije i po mogućnosti akademski stupanj magistra ili doktora znanosti. Veliku vrijednost ima osobno iskustvo stručnjaka u toksikološkim ispitivanjima, pa je zato izmjena znanja i iskustva vrlo korisna. Osim međusobne, nužna je i suradnja s zdravstvenim stručnjacima, koji će rezultate toksikologa analitičara znati korisno primijeniti u sprečavanju i liječenju profesionalnih otrovanja.

Literatura

1. Parke, D. V.: The biochemistry of foreign compounds, Oxford, Pergamon Press, 1968.
2. Kasik, J. E.: Absorption, metabolism and excretion of toxic substances, *J. Occup. Med.*, 13 (1971) 8.
3. Vesterberg, O.: General aspects of biotransformation and elimination of organic compounds in connection with occupational exposure, *Int. Arch. Occup. Environ. Hlth.*, 35 (1975) 89.
4. Stoeppler, M., Neuernberg, H.: Critical review of analytical methods for the determination of trace elements in biological materials, International workshop on biological specimen collection, Commission of the European Communities, World Health Organization, United States Environmental Protection Agency, Luxembourg, 1977 (u tisku).
5. Berlin, A., Del Castilho, P., Smeets, J.: European intercomparison programmes, Proceedings International Symposium Environmental Health Aspects of Lead, Commission of the European Communities, Luxembourg, 1973, str. 1033.
6. Berlin, A., Lauwerys, R., Ruchet, J. P., Roels, H., Del Castilho, P., Smeets, J.: Intercomparison programme on the analysis of lead, cadmium and mercury in biological fluids, Proceedings International Symposium Recent Advances in the Assessment of the Health Effects of Environmental Pollution, Paris, 1974, str. 141.
7. Maren, T. H.: Colorimetric microdetermination of antimony with Rhodamine B, *Anal. Chem.* 19 (1947) 487.
8. NIOSH Manual of analytical methods: Antimony in urine, U. S. Department of Health, Education and Welfare, Washington, D. C. 1974, str. 107—1.
9. Samsahl, K., Wester, P. O., Landström, O.: An automatic group separation for the simultaneous determination of a great number of elements in biological material. Recovery and reproducibility studies, *Anal. Chem.* 40 (1968) 181.
10. Christian, G. D., Feldman, F. J.: Atomic absorption spectroscopy: Application in agriculture, biology and medicine, Wiley-Interscience, New York, 1970, str. 421—423.
11. Wester, P. O.: Trace elements in serum and urine from hypertensive patients before and during treatment with chlorthalidone, *Acta med. scand.*, 194 (1973) 505.
12. Hamdi, E. A.: Chronic exposure to zinc of furnace operations in a brass foundry, *Br. J. Indust. Med.*, 26 (1969) 126.
13. Fuwa, K., Pulido, P., McKay, R., Vallee, B. L.: Determination of zinc in biological materials by atomic absorption spectrophotometry, *Anal. Chem.*, 36 (1964) 2407.

14. *Parker, M. M., Humoller, F. L., Mahler, D. G.*: Determination of copper and zinc in biological material by atomic absorption spectrophotometry, *Clin. Chem.*, *11* (1965) 803.
15. *Prasad, A. S., Oberleas, D., Halsted, J. A.*: Determination of zinc in biological fluids by atomic absorption spectrophotometry in normal and cirrhotic subjects, *J. Lab. Clin. Med.*, *66* (1965) 508.
16. *Hackley, B. M., Smith, J. C., Halsted, J. A.*: A simplified method for plasma zinc determination by atomic absorption spectrophotometry, *Clin. Chem.*, *14* (1968) 1.
17. *Helman, E. Z., Wallick, D. K., Reingold, I. M.*: Vacutainer contamination in trace element studies, *Clin. Chem.*, *17* (1971) 61.
18. *Halsted, J. A., Hackley, B., Rudzki, C., Smith, J. C.*: Plasma zinc concentration in liver diseases. Comparison with normal controls and certain other chronic diseases, *Gastroenterology*, *54* (1968) 1098.
19. *Lehnert, G., Schaller, K. H., Haas, T.*: Atomabsorptionsspektrometrische Cadmiumbestimmung in Serum und Harn, *Z. klin. Chem.*, *6* (1968) 174.
20. *Vens, M. D., Lauwerys, R. R.*: Détermination simultanée du plomb et du cadmium dans le sang et l'urine par le couplage des techniques de chromatographe sur résine échangeuse d'ions et de spectrophotométric d'absorption atomique, *Arch. Mal. prof.*, *33* (1972) 97.
21. *Ross, R. T., Gonzalez, J. G.*: The direct determination of cadmium in biological samples by selective volatilization and graphite tube reservoir atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, *70* (1974) 443.
22. *Posma, F. D., Balke, J., Herber, R. F. M., Stuik, E. J.*: Microdetermination of cadmium and lead in whole blood by flameless atomic absorption spectrometry using carbon-tube and carbon-cup as sample cell and comparison with flame studies, *Anal. Chem.*, *47* (1975) 834.
23. *Lauwerys, R. R., Buchet, J. P., Roels, H.*: The relationship between cadmium exposure or body burden and the concentration of cadmium in blood and urine in man, *Int. Arch. Occup. Environ. Hlth.*, *36* (1976) 275.
24. *Lewis, G. P., Jusko, J. W., Coughlin, L. L., Hartz, S.*: Contribution of cigarette smoking to cadmium accumulation in man, *Lancet*, *1* (1972) 291.
25. *Piscator, M.*: Proteinuria in chronic cadmium poisoning. 1. An electrophoretic and chemical study of urinary and serum proteins from workers with chronic cadmium poisoning, *Arch. Environ. Hlth.*, *4* (1962) 607.
26. *Piscator, M.*: Proteinuria in chronic cadmium poisoning. 2. The applicability of quantitative and qualitative methods of protein determination for the demonstration of cadmium proteinuria, *Arch. Environ. Hlth.*, *5* (1962) 325.
27. *Keckwick, R. A.*: Physico-chemical examination of the serum and urine proteins in some cases of cadmium poisoning, *Brit. J. Industr. Med.*, *12* (1955) 196.
28. *Piscator, M.*: Proteinuria in chronic cadmium poisoning. 3. Electrophoretic and immunoelectrophoretic studies on urinary proteins from cadmium workers, with special reference to the excretion of low molecular weight proteins, *Arch. Environ. Hlth.*, *12* (1966) 335.
29. *Lauwerys, R., Buchet, J. P., Roels, H., Brouwers, J., Stanesco, D.*: Epidemiological survey of workers exposed to cadmium: Effect on lung, kidney and several biological indices, *Arch. Environ. Hlth.*, *28* (1974) 145.
30. *Bernard, A., Roels, H., Hubermont, G., Buchet, J. P., Masson, P. L., Lauwerys, R. R.*: Characterization of the proteinuria in cadmium-exposed workers, *Int. Arch. Occup. Environ. Hlth.*, *38* (1976) 19.
31. *Gylseth, B., Gundersen, N., Langard, S.*: Evaluation of chromium exposure based on a simplified method for urinary chromium determination, *Scand. J. Work Environ. Health*, *3* (1977) 28.
32. *Feldman, F. J., Knoblock, E. C., Purdy, W. C.*: The determination of chromium in biological materials by atomic absorption spectroscopy, *Anal. Chim. Acta*, *38* (1967) 489.

33. Ross, R. T., Gonzales, J. G., Segar, D. A.: The direct determination of chromium in urine by selective volatilization with atom reservoir atomic absorption, *Anal. Chim. Acta*, 63 (1973) 205.
34. Grafflage, B., Buttgerit, G., Kübler, W., Hertens, H. M.: Die Messung der Spurenelemente Chrom und Mangan in Serum mittels flammenloser Atomabsorption, *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.*, 12 (1974) 287.
35. Miller, D. O., Joe, J. H.: Spectrophotometric determination of chromium in human plasma and red cells, *Clin. Chim. Acta*, 4 (1959) 378.
36. Mahoney, J. P., Small, W. J.: Studies on manganese. III. The biological half-life on radiomanganese in man and factors which affect this half-life *J. Clin. Invest.*, 46 (1967) 1090.
37. Ajemian, R. S., Whitman, N. E.: Determination of manganese in urine by atomic absorption spectrometry, *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 30 (1969) 52.
38. Ross, R. T., Gonzales, J. G.: The direct determination of trace quantities of manganese in blood and serum samples using selective volatilization and graphite tube reservoir atomic absorption spectrophotometry, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 12 (1974) 470.
39. Ethyl Corporation: »Ethyl« MMT. Methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl; Medical Guide, Ethyl Corporation, Baton Rouge, La, 1977.
40. Beritić, T.: Lead concentration found in human blood in association with lead colic, *Arch. Environ. Hlth.*, 23 (1971) 289.
41. Vitale, L. F., Loselow, M. M., Wedeen, R. F., Pawlow, M.: Blood Lead — An inadequate measure of occupational exposure, *J. Occup. Med.*, 17 (1975) 155.
42. Fleming, A. J.: Industrial hygiene and medical control procedure: Manufacture and handling of organic lead compounds, *Arch. Environ. Hlth.*, 8 (1964) 266.
43. Fernandez, F. J.: Micro determination of lead in blood with use of the graphite furnace, *Clin. Chem.*, 21 (1975) 558.
44. Prpić-Majić, D., Firm, J., Keršanc, A., Matijević, B.: Određivanje olova u krvi metodom besplamene atomske apsorpcione spektrofotometrije, IV jugoslavenski kongres medicine rada, Documenta 1975, str. 434.
45. Weber, O. A., Voloder, K., Vouk, V. B.: Prilog određivanju količina olova u krvi, *Arch. hig. rada*, 3 (1952) 296.
46. Vouk, V. A., Voloder, K., Weber, O. A., Purec, Lj.: Normal values of lead concentration in human blood, *Arch. hig. rada*, 6 (1955) 277.
47. Zielhuis, R. L.: Second international workshop on permissible levels for occupational exposure to inorganic lead, *Int. Arch. Occup. Environ. Hlth.*, 39 (1977) 59.
48. NIOSH Manual of analytical methods: Lead in blood and urine, U. S. Department of Health, Education and Welfare, Washington, D. C. 1974, str. 101—1.
49. Einarsson, O., Linstend, G.: A non extraction atomic absorption method for the determination of lead in blood, *Scand. Jour. Clin. & Lab. Invest.*, 23 (1969) 367.
50. Delves, A. T.: A micro-sampling method for the rapid determination of lead in blood by atomic absorption spectrophotometry, *Analyst*, 95 (1970) 431.
51. Hilderbrand, D. C., Koirtyohann, S. R., Pickett, E. E.: The sampling — boat technique for determination of lead in blood and urine by atomic absorption, *Bioch. Med.*, 3 (1970) 437.
52. Stanković, M., Milić, S.: Analize biološkog materijala u industrijskoj toksikologiji, *Zaštita na radu*, Niš, 1970, str. 205 i str. 216.
53. Copeland, T. R., Christie, J. H., Osteryoung, R. A., Skogerboe, R. K.: Analytical applications of pulsed voltametric stripping at film mercury electrodes, *Anal. Chem.*, 45 (1973) 2171.

54. *Keppler, J. F., Maxfield, M. E., Moss, W. D., Tietjen, G., Linch, A. J.*: Interlaboratory evaluation of the reliability of blood lead analyses, *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.* 31 (1970) 412.
55. *Browne, R. C., Ellis, R. W., Weightman, D.*: Inter-laboratory variation in measurement of blood-lead levels, *Lancet*, 2 (1974) 1112.
56. *Hernberg, A. S., Nikkanen, J.*: Enzyme inhibition by lead under normal urban conditions, *Lancet*, 1 (1970) 63.
57. *Secchi, G. C., Alessio, L., Cambiaghi, G., Andreoletti F.*: ALA-dehydratase activity of erythrocytes and blood lead levels in »critical« population groups, *Proceedings International Symposium Environmental Health Aspects of Lead, Commission of the European Communities, Luxembourg, 1973*, str. 595.
58. *Prerovska, J., Teisinger, J.*: Excretion of lead and its biological activity after termination of lead exposure, *Br. J. Ind. Med.*, 27 (1970) 352.
59. *Haeger-Aronsen, B., Abdulla, M., Fristedt, B. J.*: Effect of lead on δ -aminolevulinic acid dehydratase activity in red blood cells. II Regeneration of enzyme after cessation of lead exposure, *Arch. Environ. Hlth.*, 29 (1974) 150.
60. *Beattie, A. D., Moore, M. R.*: Tetraethyl-lead poisoning, *Lancet*, 1 (1972) 12.
61. *Millar, J. A., Thompson, G. G., Goldberg, A., Barry, P. S. J., Lowe, E. H.*: δ -Aminolevulinic acid dehydratase activity in the blood of men working with lead alkyls, *Br. J. Ind. Med.*, 29 (1972) 317.
62. *Berlin, A., Schaller, K. H.*: European standardized method for the determination of δ -aminolevulinic acid dehydratase blood activity in blood, *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.*, 12 (1974) 389.
63. *Bonsignore, D., Calissano, P., Cartasegna, C.*: Un semplice metodo per la determinazione della δ -aminolevulinico-dehidratase nel sangue. Comparamento dell' enzima nell' intossicazione saturnina, *Med. Lav.*, 56 (1965) 199.
64. *Prpić-Majić, D., Mueller, P. K., Lew, C. V., Twiss, S.*: δ -Aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) stability in human blood, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 34 (1973) 315.
65. *Moore, M. R., Beattie, A. D., Thompson, G. G., Goldberg, A.*: Depression of δ -aminolevulinic acid dehydratase activity by ethanol in man and rat, *Clin. Sci.*, 40 (1970) 81.
66. *Dimov, D., Prpić-Majić, D., Beritić, T., Keršanc, A., Karačić, V.*: Utjecaj ekoloških faktora na pojavu toksičnih porfirija. I. Alkoholizam i aktivnost dehidrataze δ -aminolevulininske kiseline, *Arh. hig. rada*, 23 (1972) 11.
67. *Sassa, S., Granick, J. L., Granick, S., Pappas, A., Levere, R. D.*: Studies in lead poisoning: I Microanalysis of erythrocyte protoporphyrin levels by spectrophotometry in the detection of chronic lead intoxication in the subclinical range, *Biochem. med.*, 8 (1973) 135.
68. *Timar, M., Batskor, J., Soos, G.*: Some experiences on the examinations in previous lead poisoning after termination of exposure, *Prac. Lek.*, 24 (1972) 101.
69. *Schlegel, H., Kufner, G., Leinberger, H.*: Das Verhalten verschiedener Parameter der Häm-synthesestörung am Menschen bei experimenteller Aufnahme anorganischer Bleiverbindungen, *Proceedings International Symposium Environmental Health Aspects of Lead, Commission of the European Communities, Luxembourg, 1973*, str. 569.
70. *Alessio, L., Bertazzi, P. A., Monelli, O., Toffoletto, F.*: Free erythrocyte protoporphyrin as an indicator of the biological effect of lead in adults males. III. Behaviour of free erythrocyte protoporphyrin in workers with past lead exposure, *Int. Arch. Occup. Environ. Hlth.*, 38 (1976) 77.
71. *Cripps, D. J., Peters, H. A.*: Fluorescing erythrocytes and porphyrin screening tests in urine, stool and blood, *Arch. Derm.*, 96 (1967) 712.
72. *Piomelli, S.*: A micromethod for free erythrocyte porphyrins: The FEP test, *J. Lab. Clin. Med.*, 81 (1973) 932.

73. *Chisolm, J. J., Brown, D. H.*: Micro-scale photofluorometric determination of »free erythrocyte porphyrin« (Protoporphyrin IX), *Clin. Chem.*, **24** (1975) 1669.
74. *Lamola, A. A., Yamane, T.*: Zinc protoporphyrin in the erythrocytes of patients with lead intoxication and iron deficiency anemia, *Science*, **186** (1974) 936.
75. *Aviv Associates*: New blood test can screen for lead poisoning, *Aviv Assoc.* 1975.
76. *Fischbein, A., Eisinger, J., Blumberg, W. E.*: Zinc protoporphyrin determination: A rapid screening test for the detection of lead poisoning, *Mount Sinai J. Med.*, **43** (1976) 294.
77. *Basin, B.*: Le dosage de l'acide delta-aminolevulinique dans le saturnisme, *Arch. Mal. Prof.*, **24** (1963) 638.
78. *Stanković, M. K.*: Biochemical tests for the appraisal of exposure to lead, *Arch. Environ. Hlth.*, **23** (1971) 265.
79. *Davis, J. R., Andelman, S. L.*: Urinary δ -aminolevulinic acid (ALA) levels in lead poisoning, *Arch. Environ. Hlth.*, **15** (1967) 53.
80. *MacGee, J., Roda, S. M., Elias, S. V., Lington, A., Tabor, M. W., Hammand, P. B.*: Determination of δ -aminolevulinic acid in blood plasma and urine by gas liquid chromatography, *Biochem. Med.*, **17** (1977) 31.
81. *Weber, K., Valić, F.*: Beiträge zur Methodik der fluoremetrischen Porphyrinbestimmung, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, **74** (1955) 556.
82. *Lauber, K.*: Porphyrinbestimmung in Urin nach Extraktion des freien Porphyrinsäuren, *Clin. Chim. Acta*, **44** (1973) 361.
83. *Koskelo, P., Toivonen, I.*: Separations of urinary coproporphyrin isomers I and III by thin-layer chromatography, *Scand. J. Clin. & Lab. Invest.*, **18** (1966) 543.
84. American Industrial Hygiene Association: Hygienic Guide Series 1963.
85. *Tejning, S., Ohman, H.*: Uptake, excretion and retention of metallic mercury in chloralkali workers, *Proceedings XV-th International Congress Occupational Health*, Wien, 1966, str. 239.
86. *Aberg, B., Ekman, L., Falk, R., Greitz, U., Perssan, G., Snihs, J. O.*: Metabolism of methyl mercury (^{203}Hg) compounds in man, *Arch. Environ. Health*, **19** (1969) 478.
87. *Lundgern, K. D., Swensson, A., Ulfvarson, U.*: Studies in humans on the distribution of mercury in the blood and the excretion in urine after exposure to different mercury compounds, *Scand. J. Clin. & Lab. Invest.*, **20** (1967) 164.
88. *Ulfvarson, U.*: Distribution and excretion of some mercury compounds after long term exposure, *Intern. Arch. Gewerbepathol. Gewerbehyg.*, **19** (1962) 412.
89. *Takeda, Y., Kunugi, T., Hoshino, O., Ukita, T.*: Distribution of inorganic, aryl and alkyl mercury compounds in rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **13** (1968) 156.
90. *Weber, O. A., Voloder, K.*: The determination of small amounts of mercury in biological material, *Arch. hig. rada*, **8** (1957) 235.
91. *Mesman, B. B., Smith, B. S., Pierce, J. O.*: Determination of mercury in urine by atomic absorption, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **31** (1970) 701.
92. NIOSH Manual of analytical methods: Mercury in urine, U. S. Department of Health, Education and Welfare, Washington, D. C. 1974, str. 103—1.
93. NIOSH Manual of analytical methods: Mercury in blood, U. S. Department of Health, Education and Welfare, Washington, D. C. 1974, str. 105—1.
94. Report of an International Committee: Maximum allowable concentration of mercury compounds, *Arch. Environ. Hlth.*, **19** (1969) 891.
95. *Magos, L., Tuffery, A. A., Clarkson, T. W.*: Volatilization of mercury by bacteria, *Br. J. Ind. Med.*, **21** (1964) 294.

96. *Kingsley, G. R., Schaffert, R. R.*: Microdetermination of arsenic and its application to biological material, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 914.
97. NIOSH Manual of analytical methods: Arsenic in urine and air, U. S. Department of Health, Education and Welfare, Washington, D. C. 1974, str. 140—1.
98. NIOSH Manual of analytical methods: Arsenic in urine and air, U. S. Department of Health, Education and Welfare, Washington, D. C. 1974, str. 139—1.
99. *Lamberton, I. G., Arbogast, B. L., Deizer, M. L., Norris, L. A.*: A rapid method for the determination of arsenic concentrations in urine at field locations, *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 37 (1976) 418.
100. *Goldwater, L. J.*: Normal concentration of metals in urine and blood, *WHO chron.* 21 (1967) 191.
101. *El-Ghawabi, S. H., Gaafar, M. A., El-Saharti, A. A., Ahmed, S. H., Malash, K. K., Fares, R.*: Chronic cyanide exposure: A clinical, radioisotope, and laboratory study, *Br. J. Ind. Med.*, 32 (1975) 215.
102. *Aldridge, W. N.*: The estimation of micro quantities of cyanide and thiocyanate, *Analyst*, 69 (1944) 262.
103. *Pettigrew, A. R., Fell, G. S.*: Simplified colorimetric determination of thiocyanate in biological fluids and its application to investigation of the toxic amblyopias, *Clin. Chem.*, 18 (1972) 996.
104. *Kaltreider, W. L., Elder, M. J., Cralley, L. V., Cadwell, M. O.*: Health survey of aluminium workers with special reference to fluoride exposure, *J. Occup. Med.* 14 (1972) 531.
105. NIOSH Manual of analytical methods: Fluoride in urine, U. S. Department of Health, Education and Welfare, Washington, D. C., 1974, str. 114—1.
106. *Eagers, R. Y.*: Toxic properties of inorganic fluorine compounds, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1969, str. 152.
107. *Teisinger, J.*: New advances in the toxicology of carbon disulfide, *Amer. Ind. Assoc. J.*, 35 (1974) 55.
108. *Pergal, M., Vukojević, N., Ćirin-Popov, N., Đurić, D., Bojović, T.*: Carbon disulfide metabolites excreted in the urine of exposed workers. I Isolation and identification of 2-mercapto-2thiazoline-5, *Arch. Environ. Hlth.*, 25 (1972) 38.
109. *Pergal, M., Vukojević, N., Đurić, D.*: II Isolation and identification of thio carbamide, *Arch. Environ. Hlth.*, 25 (1972) 42.
110. *Đurić, D., Sardučki, N., Derkeš, J.*: Iodine-azide test on urine of persons exposed to carbon disulphide, *Br. J. Ind. Med.*, 22 (1965) 321.
111. *Commins, B. T., Lawther, P. J.*: A sensitive method for the determination of carboxyhaemoglobin in a finger prick sample of blood, *Br. J. Ind. Med.*, 22 (1965) 139.
112. *Heilmeyer, L.*: Spectrophotometry in medicine, Hilger, London, 1943, str. 88.
113. *Conway, E. J.*: Microdiffusion analysis and volumetric error, Lockwood, London, 1950, str. 257.
114. *Peterson, J. F., Stewart, R. D.*: Absorption and elimination of carbon monoxide by inactive young men, *Arch. Environ. Hlth.*, 21 (1970) 165.
115. *Docter, H. J., Zielhuis, R. L.*: Phenol excretion as a measure of benzene exposure, *Am. Occup. Hyg.*, 10 (1967) 317.
116. *Walkeley, J. E., Pagnatto, L. D., Elkins, H. B.*: The measurement of phenol in urine as an index of benzene exposure, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 22 (1961) 362.
117. *Van Haafter, A. B., Sie, S. T.*: The measurement of fenol in urine by gas chromatography as a check on benzene exposure, *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 26 (1965) 1.
118. *Štilinović, L., Keršanc, E., Kralj, S., Gliha, A.*: Praktična vrijednost semikvantitativnog Rainsford-Davies testa za određivanje fenola u urinu kod ekspozicije parama benzena, *Arh. hig. rada*, 18 (1967) 341.

119. *Stanković, M., Milić, S.*: Analize biološkog materijala u industrijskoj toksikologiji, Zaštita na radu, Niš, 1970, str. 142.
120. *Ogata, M., Tomokuni, K., Takatsuka, Y.*: Quantitative determination in urine of hippuric acid and m- or p-methylhippuric acid, metabolites of toluene and m- or p-xylene, Br. J. Ind. Med., 26 (1969) 330.
121. *Pagnoto, L. D., Lieberman, L.*: Urinary hippuric acid excretion as an index of toluene exposure, Amer. Ind. Hyg. Assoc. J., 28 (1967) 129.
122. *Ikeda, M., Ohtsuji, H.*: Significance of urinary hippuric acid determination as an index of toluene exposure, Br. J. Ind. Med., 26 (1969) 244.
123. *Ogata, M., Tomokuni, K., Takatsuka, Y.*: Urinary excretion of hippuric acid and m- or p-methylhippuric acid in the urine of persons exposed to vapours of toluene and m- or p-xylene as a test of exposure, Br. J. Ind. Med., 27 (1970) 43.
124. *Buchet, J. P., Lauwerys, R.*: Measurement of urinary hippuric and methylhippuric acids by gas chromatography, Br. J. Ind. Med., 30 (1973) 125.
125. *Ohtsuji, H., Ikeda, M.*: A rapid colorimetric method for the determination of phenylglyoxylic and mandelic acids: Its application to the urinalysis of workers to styrene vapour, Br. J. Ind. Med., 27 (1970) 150.
126. *Buchet, J. P., Lauwerys, R., Roles, H.*: Evaluation de l'exposition des travailleurs au styrène par le dosage de ses metabolites urinaires: les acides mandelique et phenylglyoxylique. I Technique de dosage des metabolites par chromatographie en phase gaseuse, Arch. Mal. prof., 35 (1974) 511.
127. *Philippe, R., Lauwerys, R., Buchet, J. P., Roles, H.*: Evaluation de l'exposition des travailleurs au styrene par le dosage de ses metabolites urinaires: les acides mandelique et phenylglyoxylique. II Application aux travailleurs fabriquant des polyesters, Arch. Mal. prof., 35 (1974) 631.
128. *Ikeda, M., Ohtsuji, H. A.*: A comparative study of the excretion of Fujiwara reaction positive substances in urine of humans and rodents given trichloro or tetrachloroderivatives of ethane and ethylene, Br. J. Ind. Med., 29 (1972) 99.
129. *Tanaka, S., Ikeda, M.*: A method for determination of trichloroethanol and trichloroacetic acid in urine, Br. J. Ind. Med., 25 (1968) 214.
130. *Seto, T. A., Schultze, M. O.*: Determination of trichloroethylene, trichloroacetic acid, and trichloroethanol in urine, Analyt. Chem., 28 (1956) 1625.
131. *Imamura, T., Ikeda, M.*: A time-saving procedure for the determination of total trichloro-compounds in human urine samples, Int. Arch. Arbeits-med., 31 (1973) 333.
132. *Humbert, B. E., Fernandez, G. J.*: Simultaneous determination of trichloroacetic acid and trichloroethanol by gas chromatography, Int. Arch. Occup. Environ. Hlth., 36 (1976) 235.
133. *Monster, A. C., Boersma, G.*: Simultaneous determination of trichloroethylene and metabolites in blood and exhaled air by gas chromatography, Int. Arch. Occup. Environ. Hlth., 35 (1975) 155.
134. *Kinmerle, G., Eben, A.*: Metabolism, excretion and toxicology of trichloroethylene after inhalation. 2. Experimental human exposure, Arch. Toxikol., 30 (1973) 127.
135. *Müller, G., Sassovski, M., Henchler, D.*: Trichloroethylene exposure and trichloroethylene metabolites in urine and blood, Arch. Toxikol., 29 (1972) 335.
136. *Müller, G., Norpoth, K., Kusters, E., Herxeg, K., Versin, E.*: Determination of thiodiglycolic acid in urine specimens of vinyl chloride workers, Int. Arch. Occup. Environ. Hlth., 41 (1978) 199.
137. *Widmark, E.*: Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung, Urban & Schwarzenberg, Berlin, 1932, cit. po R. N. Harger, u: Toxicology: Mechanisms and Analytical Methods. Stewart & Stolman, 1961, Vol II, str. 126.

138. *Zelenko, V.*: Naša iskustva u određivanju etilnog alkohola u biološkom materijalu po Widmarkovoj metodi, *Arh. hig. rada*, 18 (1967) 359.
139. *Stolman, A., Stewart, C. P.*: The absorption, distribution and excretion of poisons and their metabolites; u: *Stolman, A.*: Progress in Chemical Toxicology, Volume 2, Academic Press, New York and London, 1965, str. 1.
140. *Hodgkinson, A., Zarembski, P.*: The determination of oxalic acid in urine, *Analyst*, 86 (1961) 16.
141. *Zarembski, P. M., Hodgkinson, A.*: The fluorometric determination of oxalic acid in blood and other biological materials, *Biochem. J.*, 96 (1965) 717.
142. *Piotrowski, J. K.*: Evaluation and exposure to phenol: Absorption of phenol vapour in the lungs and through the skin and excretion of phenol in urine, *Br. J. Ind. Med.*, 28 (1971) 172.
143. *Goldbaum, L. R., Schloegel, E. L., Dominguez, A. M.*: Application of gas chromatography to toxicology, u: *Stolman, A.*: Progress in Chemical Toxicology, Volume 1, Academic Press, New York and London, 1963, str. 31.
144. *Stanković, M., Milić, S.*: Analize biološkog materijala u industrijskoj toksikologiji, *Zaštita na radu*, Niš, 1970, str. 191.
145. *Feldstein, M., Klendshoj, N. C.*: Determination of methanol in biological fluids by microdiffusion analysis, *Anal. Chem.*, 26 (1954) 932.
146. *Grant, W. M.*: Colorimetric microdetermination of formic acid based on reduction of formaldehyde, *Anal. Chem.*, 20 (1948) 267.
147. *Henry, R. J.*: *Clinical Chemistry*, Harper & Row, New York, Evanston, London i John Weatherill Inc., Tokyo, 1966, str. 754.
148. *Heilmeyer, L.*: *Spectrometry in medicine*, Hilger, London, 1943, str. 102.
149. *Dubach, V. C.*: p-Aminophenol. Bestimmung im Urin als Routinemethode zur Erfassung der Phenacetineinnahme, *Deut. Med. Wschr.*, 20 (1967) 211.
150. *Cenci, P., Cavazzini, G.*: Un nuovo metodo per la purificazione ed il dosaggio del p-nitrofenolo urinario, *Med. Lav.*, 63 (1972) 62.
151. *Snyder, R. K., von Oettingen, W. F.*: A new test for the detection and the appraisal of exposure to trinitrotoluene, *J. A. M. A.*, 123 (1943) 202.
152. *Ingham, J.*: Improved Webster test for T. N. T. derivate in urine, *Lancet*, 2 (1941) 554.

Summary

SAMPLING OF BIOLOGICAL MATERIAL AND TOXICOLOGICAL-CHEMICAL ANALYSES IN OCCUPATIONAL POISONING

The basic working principles in toxicological-chemical analyses for the diagnosis of occupational poisoning are described. The tables show chemical tests for exposure to the most important metals, non-metals, aromatic hydrocarbons, halogen hydrocarbons, alcohols, amino and nitro compounds. Technical data on the methods of determination and sampling of biological material with relevant normal values can serve as very useful information to toxicologists, chemists and medical specialists on whose cooperation depends successful work and further development of toxicological-chemical diagnosis in occupational poisoning.

*Institute for Medical Research
and Occupational Health, Zagreb*

*Received for publication
February 15, 1978*