



KLINIČKI ZNAČAJ I ODREĐIVANJE FENOLA

Omeragić Sedina

SAŽETAK

S obzirom da je ZE-DO kanton industrijski kanton sve su veće potrebe za toksikološkim analizama. Toksikološkim mjerenjima se preventivno sprečavaju profesionalna oboljenja što treba da je cilj svih zavoda medicine rada.

Kako je sve veća upotreba fenola u raznim industrijama laboratorije trebaju "oživjeti" mjerenje koncentracije fenola u urinu. Fenoli dospijevaju u vodotokove, gdje predstavljaju toksične materije kako za živi svijet u vodi, tako i za ljude i okolinu. Posebna zapažanja povećanih koncentracija fenola u urinu se uočavaju za vrijeme poplava.

Radom će se dokazati povezanost između povećanih koncentracija fenola u urinu kod ispitanika koji rade na mjestima s posebnim uvjetima rada, te povezanost vandrednih stanja (poplava) i akutno povećanim vrijednostima fenola u urinu.

Autor za korespondenciju:

Sedina Omeragić MA, dipl. ing. MLD

J.U. Kantonalni zavod za medicinu rada i sportsku medicinu ZDK kantona

Služba za laboratorijsku dijagnostiku-toksikološki laboratorij

E-mail: sedina_ze@hotmail.com

1.UVOD

Apsolutno sve sorte fenola smatraju se otrovnim, kao i vrlo opasnom tvari za ljudsko zdravlje i život. Međutim, unatoč tome, proizvodi se godišnje u velikim količinama širom svijeta. Kada fenol uđe u ljudsko tijelo, može izazvati trovanje, popraćeno neugodnim i bolnim simptomima koji negativno utječu na život i zdravlje. Primjena fenola nalazi svoje mjesto u industriji, medicini i kozmetici. U industriji se fenoli koriste za proizvodnju fenolnih smola koje se primjenjuju u građevini, proizvodnji uređaja, automobila i drvnih prerađevina. Nadalje, fenoli se koriste za proizvodnju bisfenola A, koji služi kao polazni spoj u sintezi plastike, i cikloheksanola, kaprolaktama i anilina koji se koriste u industriji najlona i boja (1).



U medicini se u malim koncentracijama (do 2,5% u EU) koristi kao sastavni dio kapi za nos i uši, pastila za grlo, vodica za usta, ljekovitih masti i balzama te kao antiseptik i dezinficijens. Kozmetički proizvodi poput lakova za nokte, boja, odstranjivača laka i boje, šampona i sapuna prema propisima EU mogu sadržavati do 1% fenola u svom sastavu S obzirom na široku primjenu fenola i toksičnost u koncentracijama od samo nekoliko mikrograma po litri, koja ima ozbiljne posljedice na zdravlje ljudi, koji su direktno ili indirektno izloženi utjecaju fenola, posljednjih se nekoliko godina javila potreba za detekciju onih koncentracija fenola u mokraći koje još uvijek ne predstavljaju potencijalnu smrtnu opasnost za ljudsko zdravlje (2).

Fenoli koji su uključeni u prioritetnu listu Evropskog Komiteta (EC) i US Agencija za zaštitu okoliša (US EPA) su polutanti okoliša koji se mogu naći u pitkoj vodi, sedimentima i tlu. Fenol i druga fenolna jedinjenja su uobičajeni sastojci mnogih industrijskih efluenta prilikom hemijskih procesa kao što su proizvodnja polimernih smola, rafinisanje ulja, proizvodnja pesticida, celuloze i papira (3).

Otpadne vode iz procesa farmaceutske industrije, prerade nafte, proizvodnje pesticida, dobijanja sintetičkih polimera, proizvodnje celuloze sadrže značajnu količinu fenola. Mnoga sintetička organska jedinjenja sadrže fenol kao svoju osnovnu strukturnu jedinicu. Fenol je otrov za protoplazmu i njegov toksični efekat se ispoljava čak i pri veoma malim koncentracijama. USEPA (Američka organizacija koja se bavi ekologijom i zaštitom) je definisala fenol kao jedan od

glavnih zagađivača (polutanata) i postavila graničnu vrijednost za njega od 0,1 mg/L u otpadnim vodama koje se ispuštaju u vodotokove (3).

Fenoli

Fenoli su hidroksilni derivati aromatskih ugljikovodika u kojima je jedan atom vodika zamjenjen jednom hidroksilnom grupom (OH).

Fenoli uključuju:

- kreozot;
- butilfenol;
- hidrokinon;
- klorofenola;
- lysol i drugi.

FenolC₆H₅OH je važna industrijska hemikalija, koja dolazi kristaličnom obliku, bez boje, specifičnog mirisa, otapa se pri temperature od 43 stepena. Vrlo je isparljiv. Najkarakterističnije svojstvo fenola je njihova kiselost. Fenoli su kiseliji od alifatskih alkohola, a manje kiseli od karboksilnih kiselina. Može se reći da fenoli imaju svojstva slična alkoholima no ipak se u znatnoj mjeri razlikuju. Fenoli se mogu odvojiti od alkohola jer su više od milion puta kiseliji i od karboksilnih kiselina jer su puno manje kiseli (4-5).

Dobivaju se prirodnim putem destilacijom katrena kamenog uglja, a sintetskim putem iz benzena. Nusproizvod je pri proizvodnji koksa, što krije profesionalnu opasnost.

Korisiti se u industriji boja, lijekova, lakova, eksploziva, gume, smole, sapuna čak se jedno vrijeme koristio kao antiseptik i dezinfekciono sredstvo, no



danas se u tom svojstvu ne koristi. U farmaceutskoj industriji se koristi i dan danas za pravljenje salicilne i pikrinske kiseline (4, 5).

2. CILJ RADA

- Etablirati klinički značaj i metodu određivanja fenola
- Dokazati da su ispitanici za vrijeme poplava bili izloženi parama benzenu, te daimaju povećanu koncentraciju fenola u urinu
- Procjeniti utjecaj na zdravlje ispitanika izloženih fenolima.

3. METOD RADA

Istraživanje je retrospektivnog tipa, zasnovano na toksikološkoj analizi, dokumentovanim rezultatima iz Zavoda za medicinu rada i sportsku medicinu ZE-DO kantona u period od 01. 08 -01. 10. 2014.

Ono što je bilo signifikantno za period određivanja fenola u datom period jeste da je bilo za vrijeme velikih poplava u ZE-DO kantonu. Ispitivana skupina su ispitanici, njih 29, kod kojih su utvrđene povišene vrijednosti fenola prilikom redovnog sistematskog pregleda, s obzirom da su to ispitanici sa posebnim uvjetima rada od strane ljekara je traženi mjerenje fenola u urinu.

Od ispitanika je uzet jednokratni uzorak urina. Određivanje fenola u urinu je ponovljeno nakon 15 dana tj. nakon perioda bolovanja, u nekim slučajevima i nakon mjesec dana.

4. KLINIČKI ZNAČAJ ODREĐIVANJA FENOLA

U organizam se može unjeti putem dišnih puteva, reapsorbcijom putem kože kao i peroralnim putem. Fenol se lako apsorbira u organizam bez obzira na način unosa. Dio iz organizma izlučuje se se nepromjenjen dok dio podliježe procesu oksidacije. Urinom se izlučuje kao oksid fenola. Urin poprima boju od od tamnozeleno do crno.

Dovodi do nekroza sluznice uključujući sluznicu mokraćnog mjehura, degenerativnih promjena jetre, edema mozga. Stimulira respiratorni centar što dovodi do hiperventilacija i respiratorne alkaloze. Nakon toga nastaje acidoza zbog nepotpunog gubitka fenolskih radikala (6).

Dopuštena koncentracija u urinu može kretati od 0,5-80 mg/l urina.

Letalna doza fenola se procjenjuje na 140 mg/kg peroralno ili ukoliko je 25% površine tijela izloženo fenolu. Prema američkoj Agenciji za zaštitu okoliša (EPA), maksimalna doza fenola, koja je uvjetno sigurna kad se unese, iznosi 0,6 mg / 1 kg žive mase tijekom 1 dana. Ta se doza izračunava ne uzimajući u obzir mogući kancerogeni učinak fenola, koji se može očitovati nakon dovoljno dugog razdoblja (7).



Tabela 1. Maksimalno dozvoljene koncentracije izloženosti parama homologa benzena

Hemijska tvar/homoloji	Granična izloženost	Kratkoročna izloženost
Krezol	22 mg/m ³	
Pentaklorfenol	0,5mg/m ³	
Fenolu	8mg/m ³	16 mg/m ³

Tabela 2. Piktogram opasnosti fenola

Odjeljak	Razred opasnosti	Razred i kategorija opasnosti
3.1	Akutna toksičnost	(Ak. toks. 3)
3.2	nagrizajuće/nadražujuće za kožu	(Nagriz. koža 1B)
3.3	teška ozljeda oka/nadražujuće za oko	(Ozljeda oka 1)
3.5	mutageni učinak na zametne stanice	(Mutacije 2)
3.9	specifična toksičnost za ciljane organe - ponavljano izlaganje	(TCOP 1. 2)
4.1c	opasno za vodeni okoliš - hronična toksičnost	(hron. toks. vod. okol. 2)



Tabela 3: Prosječne koncentracije fenola u otpadnim vodama nekih industrijskih procesa (NALCO, 2009.)

INDUSTRIJSKI PROCES	cF , mg dm ⁻³ (ppm)
Proizvodnja plastičnih masa	600-2000
Proizvodnja koksa	25-3900
Proizvodnja fenolnih smola	1600
Petrokemijska industrija	50-1220
Rafinerije	6-500
Pogoni za obradu drva	150
Industrija papira i celuloze	10

4.1 Akutno trovanje

Simptomi mogu biti lokalni i opći. Lokalni simptomi su obično na sluznicama i koži u vidu razvijanja eritrema, nekroza ili gangrene. Opći simptomi su glavobolja, mučnina vrtoglavica. Snižen krvni tlak, cijanoza, edem pluća, zatajenje bubrega. Laboratorijski praćeno uz methemoglobinemiju, anemiju, hematuriju, povećane vrijednosti bilirubina, kreatinina. Dijagnoza se postavlja iz anamnestičkih podataka, kliničke slike i laboratorijskih nalaza od kojih posebno treba izdvojiti određivanje fenola i njegovih metabolita u urinu (8).

Urin je izrazito tamne boje od smeđe do crne, dok nalaz bilirubina u urinu ostaje negativan. Određivanja fenola u krvi i urinu izloženih osoba predstavlja najznačajniji biomarker izlaganja. Određivanje fenola se uglavnom vrši u urinu koji se u slučaju profesionalnih trovanja skuplja nakon osmosatne smjene. Najznačajniji biomarker djelovanja je tamna boja urina (9).

5. METODE ODREĐIVANJA FENOLA

5.1 Određivanje fenola u urinu spektrofotometrijskom metodom

Princip metode

Destilacija urina vodenom parom omogućava izdvajanje fenola. Fenol stvara s diazotiranim p-nitroanilinom obojeni kompleks čiji se intenzitet mjeri na 525 nm. Koncentracija fenola se izračunava na temelju jednadžbe.

Najniža koncentracija fenola koja se sa sigurnošću može izmjeriti jeste 2,0 mg. Analiza se može uspješno primjeniti na raspon od 10-100 mg. Prednost metode u usporedbi s ostalim kolorimetrijskim metodama je u tome što nije potrebno odrediti pH. Nedostatak metode je što nije dovoljno specifična i što je postupak dugotrajan zbog destilacije vodenom parom.

Uzima se jednokratni uzorak urina u točno određeno vrijeme na početku i kraju ekspozicije. U tikvicu pipetirati 10 ml urina, dodati 4ml razređene H₂SO₄ i 5 ml destilovane vode. Tikvicu priključiti na dovod vodene pare.



Destilat dobro promiječati, 10ml odpipetirati u lab. Čašicu (25ml) dodati 1 ml 50% natrijeva acetat i 1ml diazotiranog p-nitroanilina. Tačno nakon 1 minute dodati 2ml 20% natrijeva karbonata i 6 ml destilovane vode. Nakon 3 minute odredi se apsorbcija na 525 nm uz slijepi uzorak (De-H₂O+reagensije). Na temelju jednadžbe regresijskog pravca koji prolazi ishodištem $y=bx$ koncentracija $\mu\text{mol C}_6\text{H}_5\text{OH/l}$, a y apsorbcija, koncentracija fenola u urinu izračuna se množenjem apsorbcije s recipročnom vrijednošću nagiba regresijskog pravca (b) (10-11).

5.2 Određivanje fenolau urinu semikvalitativnom metodom

Princip metode

Fenol u alkalnoj sredini reagujući sa 2,6 dihlorhino- 4-hlorimidom (Gibbsov reagens) daje plavo obojeni indofenol, čiji je intenzitet proporcionalan količini konjugovanog i slobodnog fenola. Prema intenzitetu boje procjenjuje se koncentracija fenola. U koncentracionom području od 150-300mg omogućeno je dobro ocjeniti razlike u intenzitetu boje. Budući da je metoda semikvantitativna preciznost i tačnost nisu određivani ali je statističkom analizom upoređivanja analiza dobivenih ovom metodom i spektrofotometrijskom metodom utvrđena dobra povezanost. Prednosti su što je metoda brza i jednostavna za izvođenje. Nedostatak metode je interferencija indolnih proizvoda koji mogu dati povišen rezultat. Indolna jedinjenja nastaju zbog prisustva bakterija koji stoji duže na sobnoj temperature.

Uzeti jednokratni uzorak urina na kraju radne smjene. Ako se urin transportuje neophodno je odmah nakon uzimanja urina dodati 40% perhlornu kiselinu u odnosu 0,4ml perhlorne kiseline na 1ml urina. Otpipetirati 1 ml urina u epruvetu i dodati 0,4ml 40% perhlorne kiseline.

Epruvetu ostaviti 10 min minuta u ključalom vodenom kupatilu kako bi se izvršila hidroliza konjugovanih fenolnih proizvoda, nakon toga naglo ohladiti epruvetu pod mlazom vode. Ohlađenom rastvoru dodati 4ml etiletera i u zatvorenoj epruveti promiješati par puta za ekstrakciju fenola. Ostavi se stajati da se izdvoji etarni sloj u kome su rastvori fenoli (11).

U udubljenje u porcelanskoj posudi dodaju se sljedeći reagensi i po određenom redosljedu:

- alkoholni boratni pufer 0,2ml
- izdvojeni boratni puffer 0,1ml
- Gibssov reagens 0,05ml

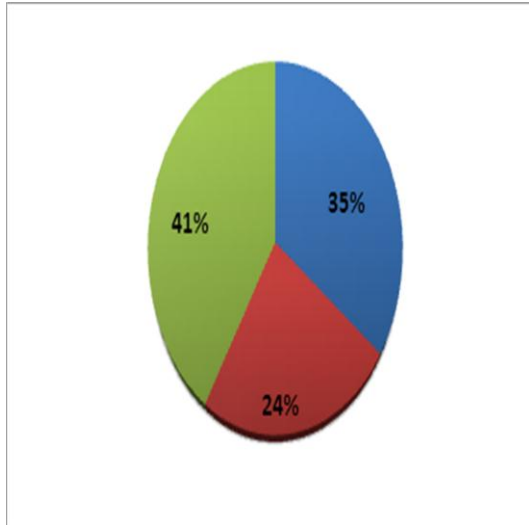
U roku od 3 minute će se razviti boja (2, 3).

Procjenjivanje koncentracije fenola prema razvijenoj boji:

- ružičasta boja - 17 mg fenola u urinu
- +/- siva boja - 26 mg fenola u urinu
- + slaboplavičasta boja - 66 mg fenola u urinu
- +++ plava boja - 138 mg fenola u urinu
- ++++ jako plava boja - 320 mg fenola u urinu

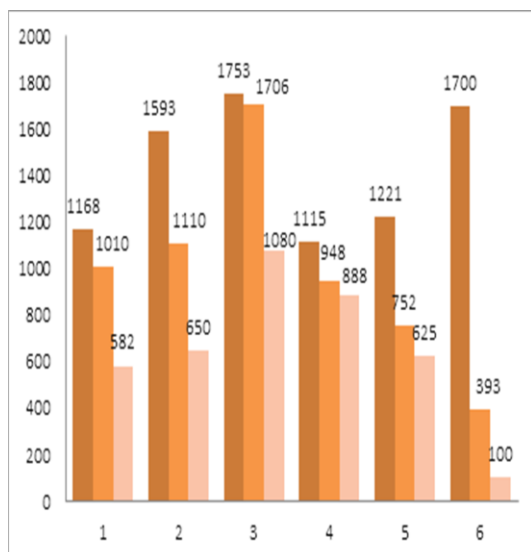
6.REZULTATI

Kod svih 29 ispitanika su uočene povećane vrijednosti fenola u urinu, 12 ispitanika (41%) je koncentracija fenola u urinu izmjerena u rasponu od 180-300 mg/L, kod njih 10(35%) koncentracija fenola u urinu kretala se u rasponu 300-800mg/L, dok je kod njih 7(24%) koncentracija prelazila 800mg/L.



Grafikon 1. Prikaz izmjerenih koncentracija fenola u urinu

Grafikon 2. prikazuje pad vrijednosti fenola u urinu kod 6 ispitanika. Ponovno mjerenje je vršeno nakon dvije, a kasnije i nakon 3 sedmice i pošto su uklonjeni potencijalni faktori koji su doveli do povišenih vrijednosti. Pacijentima je sugerisano da piju flaširanu vodu, da odu na odmor, te da smanje konzumiranje cigareta.



Grafikon 2. Prikaz pada vrijednosti fenola

7. ZAKLJUČAK

Cilj rada prije svega jeste osvjestiti zdravstveno osoblje o važnosti i potrebi toksikoloških analiza i toksikoloških laboratorija. S obzirom na sve veću primjenu fenola u raznim industrijama (farmaceutska, kozmetička, namjenska industrija) opravdano je posvetiti više pažnje mjerenju fenola.

Svaka laboratorija, a posebno laboratorije u sklopu medicine rada trebaju uspostaviti i odabrati svoju optimalnu metodu za detekciju metabolita benzena fenola u urinu ispitanika koji su izloženi parama benzena u radnoj sredini.

Klinički značaj određivanja fenola se ogleda kroz prepoznavanje trovanja, te kroz prevenciju profesionalnih oboljenja.

Radom je dokazana povezanost povećanih vrijednosti fenola u urinu za vrijeme poplava, obzirom da je bilo vandredno stanje (poplave) dolazilo je i do mješanja pitkih i otpadnih voda.

Kod ispitanika su evidentirane, akutne, povećane vrijednosti fenola u urinu, te je omogućena prevencija težih oštećenja zdravlja kroz promjenu uslova rada ili radnog mjesta, slanje radnika na odmor, te kroz preporuke za korištenje flaširane vode, ukoliko su pušači da prestanu konzumirati cigarete ili bar smanje konzumaciju cigareta.

Sve predhodne preporuke i mjere koje su poduzete dovele su do tendencije pada vrijednosti fenola u urinu, što se potvrdilo ponovljenim mjerenjima nakon 14-21-28 dana.

Nakon sanacije šteta od poplava smanjena je izloženost fenolu a samim tim kod ispitanika je pala i koncentracija fenola u urinu.



8.LITERATURA

1. Sofilić T. Ekotoksikologija, Sisak 2014.
2. Wade L.G. Phenol, Chemical Compound. Encyclopaedia Britannica, 2018
3. Al-Khalid T.; El-Naas M.H. (2012.): Aerobic biodegradation of phenols: A comprehensive review. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 42, 1631-1681.
4. Smith J.G. Organic Chemistry, McGraw-Hill, New York, 2011.
5. Geissman T.A. Principles of Organic Chemistry, W.H. Freeman and company, San Francisco, 1977.
6. Duraković Z i sur. Klinička toksikologija, Zagreb 2000.
7. Gilbert S.G. A small dose of toxicology: The Health Effects of common Chemicals. CRC Press, 2004.
8. Todorević V. Acute phenol poisoning, Med. Pregl. 56 (2003) 37-41.
9. Sofilić T, Makić H. Toksikologija, Sisak 2019.
10. Plavšić F, Žuntar I. Uvod u analitičku toksikologiju. Školska knjiga Zagreb, 2006.
11. Majić D.P. Odabrane toksikološko-kemijske analize bioloških uzoraka za primjenu u medicini rada, kliničkoj toksikologiji i ekologiji. Beograd 1985.
12. Chen Y, Xiao H, Zhen J, Liang G. Structure-Thermodynamics Antioxidant Activity Relationships of Selected Natural Phenolic Acids and Derivatives: An Experimental and Theoretical Evaluation, PLoS One. 24, 2015.
13. URL: <https://www.chemicalbook.com/NewsImg/2018-05-23/20185231913269882.jpg> (13.10.2020.)
14. URL: <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Phenol&oldid=876795242> (26.10.2020.).



CLINICAL SIGNIFICANCE AND DETERMINATION OF PHENOL

Omeragić S.

ABSTRACT

Since Ze-Do Canton is an industrial canton, there is a growing need for toxicological analyzes. Toxicological measurements prevent occupational diseases, which should be the goal of all occupational medicine institutes.

As the use of phenol in various industries increases, laboratories need to "revive" the measurement of phenol concentration in urine. Phenols reach watercourses, where they represent toxic substances for the living world in the water, as well as for people and the environment. Special observations of increased concentrations of phenols in the urine are observed during floods.

In this working will prove the connection between increased concentrations of phenol in urine in subjects working in places with special working conditions, and the connection between emergencies (floods) and acutely increased values of phenol in urine.

Corresponding author:

Sedina Omeragić

*Department of laboratory diagnostics,
Institute of Occupational Medicine and
Sports Medicine of ZE-DO Canton,
Bulevar Kralja Tvrtka I br.4, 72000*

Zenica, Bosnia and Herzegovina

E-mail: sedina_ze@hotmail.com

Tel: 0038761/454-239