

Probleme des «Biological Monitoring» von Benzolexpositionen

D. Bauer

c/o Abteilung Sicherheit und Umweltschutz, F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, CH-4002 Basel

Einleitung

Das Benzol-exponierte Personen im Urin Phenol ausscheiden, ist seit 1916 bekannt [1]. Diese Phenolausscheidung ist in der Fachliteratur erstmals 1955 für die biologische Expositionsüberwachung (Biological Monitoring) benzol-exponierter Personen vorgeschlagen worden [2] und wird heute in der Praxis breit angewendet, obwohl in bezug auf Grenzwerte und Interpretation nach wie vor eine erhebliche Unsicherheit herrscht [3]. Andere Methoden des Biological Monitoring, wie zum Beispiel die Bestimmung von Benzol in Blut oder Ausatemluft [4,5], haben sich demgegenüber aus verschiedenen Gründen in der Routine noch nicht durchgesetzt [6,7].

Da Benzol beim Menschen zu ca. 80 % als Phenol im Urin ausgeschieden wird (hauptsächlich sulfatkonjugiert, bei hoher Dosis jedoch zum Teil auch als Glucuronid oder als freies Phenol), und diese Ausscheidung relativ rasch erfolgt (Eliminationshalbwertszeit ca. 6-8 Stunden), erscheint die Phenolbestimmung im Urin zunächst als idealer Parameter für das Biological Monitoring von Benzol. In der Praxis wird die Interpretation der Resultate jedoch vor allem durch folgende Faktoren erschwert:

- o Phenol ist ein natürliches, auch im Urin von nicht benzol-exponierten Personen immer vorkommendes Ausscheidungsprodukt [8].
- o Die natürliche Phenolausscheidung ist bei bestimmten Gesundheitsstörungen und Erkrankungen erhöht [9].
- o Phenol entsteht auch als Abbauprodukt von bestimmten Nahrungsmitteln und Medikamenten [10].
- o Neben Phenol werden im Urin auch verschiedene andere, nicht benzolbedingte phenolische Stoffwechselprodukte ausgeschieden (zum Beispiel Kresole). Diese in wechselnden Mengen ausgeschiedenen Phenolkörper können bei unspezifischen Analysemethoden einen erhöhten Phenolgehalt vortäuschen [11].
- o Der hauptsächlich in der Leber erfolgende Abbau von Benzol zu Phenol kann durch andere Stoffe empfindlich gestört werden [12,13].
- o Ob die Phenolausscheidung mit der arbeitstoxikologisch relevanten Organdosis korreliert und auch als Mass für das mit einer Benzolexposition verbundene toxische Risiko gelten kann, ist nicht bekannt.
- o Massgebend für das Biological Monitoring ist die Phenolausscheidungsrate im Urin (mg/Zeiteinheit). In der Praxis werden aber häufig nur Konzentrationswerte gemessen. Da die Urinausscheidungsrate unter anderem auch stark von der jeweils aufgenommenen Flüssigkeitsmenge abhängt, kann die alleinige Bestimmung der Phenolkonzentration im Urin zu Fehlbeurteilungen führen [14].

Die biologische Expositionsüberwachung mit der Phenolbestimmung im Urin ist demzufolge kein einfaches Unterfangen. Je nach Spezifität der Analysemethoden unterscheiden sich die anzuwendenden Phenolgrenzwerte bis zu einer Zehnerpotenz voneinander, und die Resultate einzelner Untersuchungen können oft nicht miteinander verglichen werden. Um beim Biological Monitoring von Benzol einheitliche Beurteilungskriterien und für epidemiologische

Zwecke verwendbare Grundlagen zu schaffen, sollte man an die Phenolbestimmung vermehrt einheitliche Spezifitätsanforderungen stellen. In diesem Sinne werden nachfolgend die gebräuchlichen Analysemethoden in 4 Gruppen eingeteilt und in bezug auf ihre Brauchbarkeit für das Biological Monitoring von Benzol diskutiert.

1. Indirekte Phenolbestimmung durch Erfassung des Verhältnisses vom anorganischen Sulfat zum Gesamtsulfat

Das Verhältnis vom anorganischen Sulfat zum Gesamtsulfat im Urin beträgt normalerweise mehr als 85 %. Da Phenol beim Menschen im Urin vorwiegend als Sulfokongugat ausgeschieden wird, bewirkt eine Benzolexposition eine Verringerung des Sulfatverhältnisses [15]. Die Empfindlichkeit dieses Tests ist jedoch sehr gering. Eine statistisch signifikante Verringerung des Sulfatverhältnisses auf unter 70 % wird erst bei Benzolexpositionen von über 40 ppm beobachtet. Auch ist die Spezifität ungenügend, da zahlreiche andere hydroxylierte organische Substanzen im Urin ebenfalls als Sulfokongugate ausgeschieden werden. Der Sulfattest hat daher heute nur noch historische Bedeutung.

2. Kolorimetrische Phenolbestimmung durch Diazokupplung

Phenol kann kolorimetrisch mit sehr guter Empfindlichkeit durch Kupplung mit diazotiertem p-Nitroanilin nachgewiesen werden (Methode nach Theis-Benedict [16]). Mit der Diazokupplung werden allerdings auch die verschiedenen Kresolisomeren und weitere Phenolverbindungen mehr oder weniger miterfasst. Mit dieser Methode, wie auch mit der angeblich etwas spezifischeren Variante mit einem stabilisierten Diazoniumsalz [17] sind im Urin von nicht benzol-exponierten Personen Durchschnittswerte von 17 bis 30 mg/l und Spitzenwerte bis über 50 mg/l gemessen worden. Dies erstaunt nicht, da p-Kresol, das die phenolische Hauptkomponente im Normalurin darstellt (bis über 60 % des "Gesamtphenols"), Konzentrationen bis zu 200 mg/l erreichen kann. Diese Methode eignet sich daher nicht, um Benzolexpositionen im heutigen MAK-Wertbereich zu überwachen. Sie dürfte aber nach wie vor für die Überwachung von akuten Benzol- oder Phenolintoxikationen brauchbar sein, bei welchen es vor allem um die einleitenden ärztlichen Massnahmen und die prognostische Beurteilung des Intoxikationsverlaufs geht [18].

3. Kolorimetrische Phenolbestimmung durch oxidative Kupplung in para-Stellung

Eine in bezug auf Substitutionen relativ spezifische Phenolbestimmung ist durch Umsetzung mit 2,6-Dichlorchinonimid [19] oder 4-Aminoantipyrin [20] möglich, beides klassische Reaktionen der Farbstoffchemie. Durch oxidative Kupplung des Reagens mit dem Phenol in para-Stellung entstehen intensiv gefärbte Chromogene (blaue Indophenol-, resp. rote p-Chinonimid-Farbstoffe). Phenole, die in para-Stellung substituiert sind (zum Beispiel p-Kresol), reagieren nicht, wohl aber ortho- und metasubstituierte Phenole. Für beide Methoden sind bei nicht benzol-exponierten Personen Konzentrationen im Bereich von 7-10 mg/l als Normalwerte bezeichnet worden.

Die 4-Aminoantipyrinmethode ist in Deutschland vor kurzem noch einmal überprüft und für das Biological Monitoring von Benzol als geeignet empfohlen worden [21]. Die Miterfassung von ortho- und metasubstituierten Phenolen wurde dabei als diagnostisch tolerierbar bezeichnet, obwohl bekannt ist, dass Alkylbenzole, die als Arbeitsstoffe weit verbreitet sind, zu aminoantipyrin-positiven Phenolen führen [22] und somit die Aussagekraft der Resultate erheblich verringern können.

4. Selektive Phenolbestimmung mit chromatographischen Trennverfahren

Gaschromatographische Phenolbestimmungsmethoden gelten als praktisch interferenzfrei, da durch Aenderung der chromatographischen Bedingungen, der Trennphase oder auch der Säulentechnik praktisch alle störenden, nicht schon bei der Aufarbeitung entfernten Begleitstoffe vom Phenolpeak getrennt werden können (für eine Uebersicht vgl. [23], für neuere Methoden [24-26]). Sie sind daher in bezug auf Spezifität allen kolorimetrischen Verfahren eindeutig überlegen. Neben der Gaschromatographie (GC) ist auch die Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC) als spezifische Methode vorgeschlagen worden [26]. Sowohl für die GC- als auch für die HPLC-Methode sind bei nicht benzolbelasteten Personen Normalwerte von durchschnittlich 4,6 mg/l gefunden worden [26]. Dieser Wert lag signifikant unter dem entsprechenden, mit der Aminoantipyrin-Methode bestimmten Durchschnittswert von 6,8 mg/l.

Folgerungen

Da Benzol im Gegensatz zu seinen Homologen als beim Menschen eindeutig kanzerogen eingestuft ist, sollte beim Biological Monitoring die Benzolexposition so selektiv wie möglich erfasst werden, insbesondere da bei kanzerogenen Arbeitsstoffen die Exposition grundsätzlich so gering wie möglich gehalten werden sollte. Im Falle von Mischexpositionen (reine Benzolexpositionen kommen heute praktisch nicht mehr vor) haben alle kolorimetrischen Verfahren nachgewiesenermaßen eine ungenügende Spezifität, sodass bei erhöhten Phenolwerten im Urin nicht gesagt werden kann, welcher Anteil auf eine allfällige Benzolexposition zurückzuführen ist. Dies führt zu einer diagnostischen Unsicherheit, die vermieden werden sollte. Aus arbeitshygienischer Sicht sollten für die Phenolbestimmung nur noch chromatographische Verfahren, am besten gaschromatographische, eingesetzt werden. Im Hinblick auf die Vereinheitlichung der Phenolgrenzwerte sollte man eine validierte GC-Methode als eigentliche Referenz- oder Standardmethode bezeichnen. Weiter sollte man, um angesichts der eingangs diskutierten Schwierigkeiten die Interpretation der Resultate zu erleichtern, ausserdem beim Biological Monitoring nach Möglichkeit wie folgt vorgehen (vgl. auch [27]):

- o Bestimmung der Phenolausscheidung auch vor der Exposition (bei erhöhten Werten Wiederholung, ev. diagnostische Abklärung)
- o Gleichzeitige Erfassung der Kresolausscheidung (im Falle von Mischexpositionen oder gastrointestinaler Störung von diagnostischem Interesse)
- o Gleichzeitige Bestimmung der Kreatininkonzentration zur Korrektur der Phenol- und Kresolwerte (stark verdünnte, resp. konzentrierte Proben verwerfen)
- o Gleichzeitige Durchführung einer personengebundenen Luftüberwachung mit Aktivkohleröhrchen oder Diffusionsbadges (GC-Analyse, erlaubt neben Benzol auch andere relevante Kohlenwasserstoffe zu bestimmen)

Summary

The biological monitoring of workers exposed to benzene containing mixtures by phenol analysis in urine is complicated by the facts that varying amounts of phenolic compounds are also produced by other precursors than benzene and that coexposure with other chemicals can cause interactions in metabolism and elimination rates. In order to overcome these difficulties it is proposed

- a) to abandon the colorimetric methods and to use only gas chromatography as a standard and reference method,
- b) as an overall monitoring concept always to determine phenol pre-exposure values as well as the cresol and creatinine concentrations in urine, and to combine biological monitoring whenever possible with personal air sampling.

Literatur

- [1] Brewer, R., H., Weiskotten, H., G.; J. Med. Research 35, 71 (1916)
- [2] Teisinger, J., Fiserova-Bergerova, V.; Arch. Mal. Profess. 16, 221 (1955)
- [3] Int. Workshop on Toxicity of Benzene, Paris: 9th-11th Nov. 1976; Int. Arch. Occup. Environ. Hlth. 41, 65-76 (1978)
- [4] Berlin, M., Holm, S., Knutson, P., Tunek, A.; Arch. Toxicol. Suppl. 2, 305-310 (1979)
- [5] Angerer, J., Szadkowski, D., Manz, A. et al.; Int. Arch. Arbeitsmed. 31, 1 (1973)
- [6] Brief, R. S., Lynch, J., Bernath, T., Scala, R.A.; Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 41, 616-623 (1980)
- [7] Lauwerys, R.; Scand. J. Work Environ. Hlth. 1, 139-172 (1975)
- [8] Fishbeck, W. A., Langer, R., R., Kociba, R., Y.; Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 36, 820 (1975)
- [9] Eikmann, Th., Gabriel, M., Laenerts-Langanke, H., Prajsnar, D.; Zbl. Arbeitsmed. 33, 40-48 (1983)
- [10] Kociba, R. J., Kalnins, R. V., Wade, C. E. et al.; Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 37, 183 (1976)
- [11] Docter, H. J., Zielhuis, R. L.; Ann. Occup. Hyg. 10, 317-326 (1967)
- [12] Ikeda, M., Ohtsuji, H.; Tox. Appl. Pharmacol. 20, 30, (1971)
- [13] Ikeda, M., Ohtsuji, H., Imamura, T.; Xenobiotica 2, 101 (1972)
- [14] Demareux, A., Küng, H.-L., Wirz, H.; Sozial- und Präventivmed. 28, 88-94 (1983)
- [15] Yant, W., P., Schrenk, H., H.; J. Ind. Hyg. Toxicol. 18, 69 (1936)
- [16] Theis, R., C., Benedict, S., R.; J. Biol. Chem. 61, 67 (1924)
- [17] Buchwald, H.; Ann. Occup. Hyg. 9, 7 (1966)
- [18] Küng, H.-L., Larsen, M.; Arbeitsmed. Sozialmed. Arbeitshyg. 4, 98 (1977)
- [19] Gibbs, H., D.; J. Biol. Chem. 72, 649-664 (1927)
- [20] Bardodej, Z.; Arbeitsmed. Sozialmed. Arbeitshyg. 3, 141-142 (1968)
- [21] Analysen in Biol. Material, Band 2, 7. Lieferung, Verlag Chemie, Weinheim, 1983
- [22] Angerer, J., Lehnert, G.; Int. Arch. Occup. Environ. Hlth. 43, 145-150 (1979)
- [23] Dirmikis, S., M., Darbre, A.; J. Chromatog. 94, 169-187 (1974)
- [24] Buchet, J., P., Lauwerys, R.; J. Europ. Toxicol. 1, 27 (1972)
- [25] Van Roosmalen, P., B., Purdham, J., Drummond, I.; Int. Arch. Occup. Environ. Hlth. 48, 159-163 (1981)
- [26] Angerer, J.; Int. Arch. Occup. Environ. Hlth. 42, 257-268 (1979)
- [27] Bauer, D.; 6. Int. Koll. für die Verhütung von Arbeitsunfällen und Berufskrankheiten in der chem. Industrie, Frankfurt, 18-20.6.1979, Int. Sektion der IVSS, Proceedings, 269-286, 1979