

## **METABOLITOS DEL ESTIRENO**

El uso progresivo del estireno como solvente y en productos sintéticos significa un riesgo de intoxicación para los trabajadores expuestos. La excreción urinaria del ácido fenilgloxílico y ácido mandélico, productos del metabolismo del estireno, es un índice biológico que puede servir de prueba de exposición y de diagnóstico de intoxicación.

Se describe un método colorimétrico para la determinación cuantitativa de estos dos metabolitos del estireno con patrón de color una mezcla de ácido sulfúrico-formalina. Se determinan los factores necesarios para convertir densidades ópticas a unidades gravimétricas.

Se analizan los niveles urinarios que expresan los límites máximos permisibles reglamentarios.

### **METODO COLORIMETRICO PARA LA DETERMINACION DE ACIDO FENILGLOXILICO Y ACIDO MANDELICO EN TRABAJADORES EXPUESTOS A ESTIRENO**

*CARMEN OYANGUREN T.*  
Jefe Laboratorio de Bioquímica

El estireno (vinilbenceno, feniletileno) muy empleado en la industria de las materias plásticas puede llegar a ser tóxico a concentraciones altas. Es un líquido irritante para la piel y cuyos vapores pueden producir irritación a los ojos, nariz y vías respiratorias.

Actúa como depresor del sistema nervioso central y se discute su efecto tóxico sobre el hígado, el riñón y la médula ósea.

Se han estudiado sus posibles efectos mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos (1). Su concentración máxima permisible según el Decreto 19/76 es de 80 ppm. referido a una exposición de 48 horas semanales (2). Los síntomas se observan a concentraciones sobre 200 ppm. Los efectos son generalmente transitorios y es suficiente alejar al sujeto de la atmósfera contaminada para su recuperación.

El metabolismo del estireno tanto en el hombre como en animales de laboratorio está bien establecido (3), (4). La vía metabólica más importante en el hombre es la oxidación hacia ácido mandélico y ácido fenilgloxílico en un 90%. No se ha demostrado aumento de ácido hipúrico como ocurre en la rata, razón por la cual en el hom-

bre la medición de ácido hipúrico no sirve como un indicador de exposición a estireno. (Fig. N° 1).

Hay numerosos indicadores biológicos en la exposición a estireno. Uno de ellos es el análisis de estireno en el aire expirado, análisis de estireno en sangre y tejido adiposo y análisis de los metabolitos urinarios.

Se ha preferido la determinación de los metabolitos urinarios por utilizar muestras más fáciles de obtener y más representativas, ya que el estireno en el aire expirado y sangre representa una pequeña fracción de la dosis absorbida, lo que es una limitación para un buen indicador biológico. Se han propuesto varios métodos para la determinación de los metabolitos urinarios, ya sea por espectrofotometría, cromatografía de gases, polarografía (4), etc.

Se considera que el método de Ohtsuji e Ikeda (5) es conveniente para el análisis de metabolitos urinarios en trabajadores expuestos a estireno.

Muchos autores concuerdan que la mejor muestra de orina que se correlaciona con la exposición es de la mañana siguiente a ella, es decir, 14 horas después de la exposición.

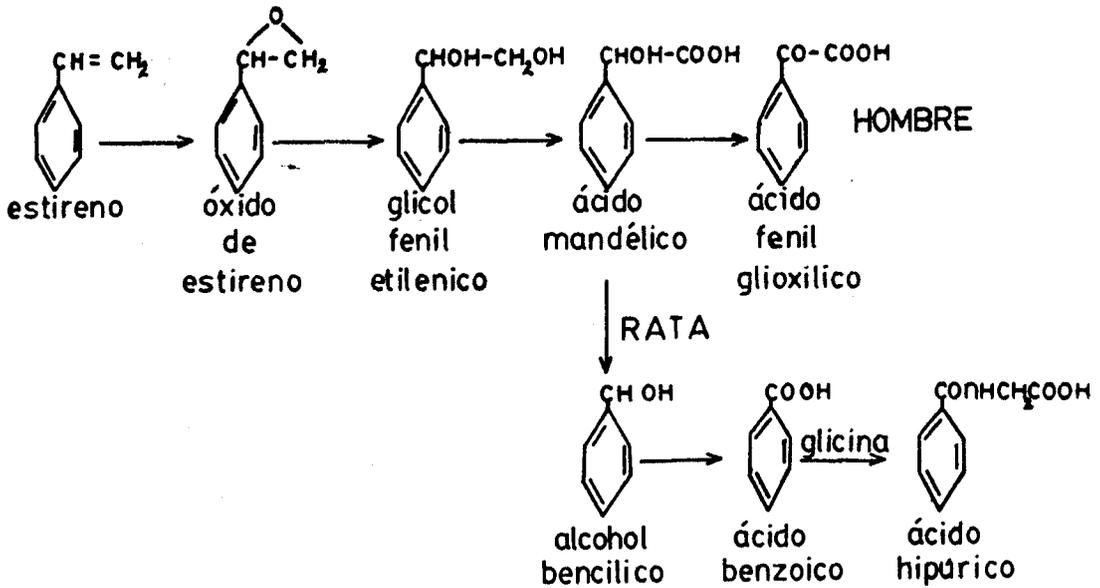


Fig 1 ESQUEMA DEL METABOLISMO DEL ESTIRENO EN EL HOMBRE Y EN LA RATA

En todo caso la suma de los ácidos mandélicos y fenilglioxílico representa mejor la exposición que el resultado de un solo áci-

do. Sin embargo, el ácido mandélico al finalizar el turno es un buen indicador para algunos autores (6).

TABLA 1

LIMITES BIOLÓGICOS DEL ACIDO MANDELICO Y ACIDO FENILGLIOXILICO PROPUESTOS POR VARIOS AUTORES (4)

Autor	Estireno (ppm)	Límite biológico permisible (a) (orina)
Engström et al.	100	2.300 mg AM/g cr.
Gütell et al.	50	1.000 mg AM/1
	100	2.000 mg AM/1
Härkönon et al.	50	1.660 mg AM/1b
	100	3.000 mg AM/1b
Institute of Occupational Health Helsinki (1974)		1.500 mg AM/1
Philippe et al.	100	350 mh PGA/g cr.
Ohtsují and Ikeda	10-30	875 mg AM/1
	10-30	381 mg AFG/1
Schaller and Valentin Bardodéj		350 mg AM/1
	50	1.500 mg AM/1 <sup>c</sup>
	50	1.000 mg AM/g cr.
	100	3.000 mg AM/1 <sup>c</sup>

a: AM = Acido mandélico, AFG = Acido fenilglioxílico, cr = creatinina.

b: Densidad de la orina = 1.018.

c: Densidad de la orina = 1.024.

## MATERIAL Y METODO

El método usado por Ohtsuji e Ikeda (5) se basa en el color desarrollado por el ácido mandélico y fenilgloxílico en ausencia de agua con una mezcla de ácido sulfúrico y formalina. El ácido mandélico y el fenilgloxílico se determinan cuantitativamente uno con presencia del otro por medio del principio de las absorbencias aditivas a 450 mu y 350 mu donde están las máximas absorbencias para estos ácidos, respectivamente.

El ácido mandélico y ácido fenilgloxílico se obtiene de la Sigma Chemical Co. USA.

El reactivo ácido sulfúrico y formalina es una mezcla de ácido sulfúrico concentrado y formalina 40% (P/V) (100 : 1. V/V).

El éter libre de paróxido se obtiene por destilación con sulfato ferroso.

Se usó un espectrofotómetro Beckman D. U., con una lámpara de tungsteno como fuente de emisión.

Una muestra de 0,5 ml de orina se acidifica con 0,05 ml de HGL 1 N, se agrega 5,0 ml de éter y se agita vigorosamente por 10 minutos. De la capa etérea se toma 1 a 4 ml en un tubo y se evapora a sequedad en un baño de agua a 70°C. Luego se agrega a 4 ml de reactivo ácido sulfúrico-formalina para el desarrollo de color y después de 1 hora se leen las absorbencias a 350 mu y 450 mu, usando como blanco el reactivo ácido sulfúrico-formalina.

## RESULTADOS

*Cálculo de la concentración de ácido mandélico y ácido fenilgloxílico a partir de las absorbencias a 350 mu y 450 mu:*

La absorbencia del ácido fenilgloxílico es mayor a 350 mu y la del ácido mandélico mayor a 450 mu y las absorbencias son aditivas cuando estos dos ácidos están en mezcla.

$A_{350} = a_1$  (ug ác. fenilgloxílico) +  $a_2$  (ug ác. mandélico).

$A_{450} = a_3$  (ug ác. fenilgloxílico) +  $a_4$  (ug ác. mandélico).

Se mide la absorbencia de una serie de standards de ácido fenilgloxílico en presencia de 0, 100 y 400 ug ácido mandélico a 350 mu. De este gráfico se obtienen los coeficientes de absorción  $a_1$  y  $a_2$  para ácido fenilgloxílico y ácido mandélico. Gráfico I.

Se mide la absorbencia de una serie de standard de ácido mandélico en presencia

de 0 y 40 ug de ácido fenilgloxílico a 450 mu. De este gráfico se obtienen los coeficientes de absorción  $a_3$  y  $a_4$ . Gráfico II.

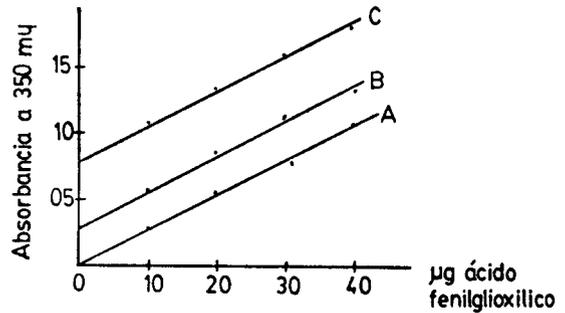


Gráfico 1 Absorbancia de mezclas de ácido fenilgloxílico y ácido mandélico a 350 mu

A: 0 ug ácido mandélico  
B: 100 ug " "  
C: 400 ug " "

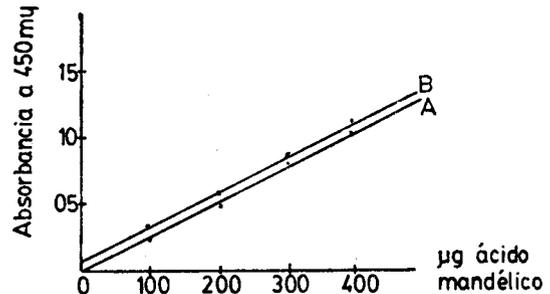


Gráfico 2 Absorbancia de mezclas de ácido mandélico y ácido fenilgloxílico a 450 mu

A: 0 ug ácido fenilgloxílico  
B: 40 ug " "

Reemplazando en las ecuaciones anteriores los respectivos coeficientes de absorción tenemos las siguientes ecuaciones:

ug ácido fenilgloxílico =  $40,6 \times A_{350} - 28,1 \times A_{450}$ .

ug ácido mandélico =  $460 \times A_{450} - 31,5 \times A_{350}$ .

El método se aplicó a un grupo de trabajadores expuestos a bajas concentraciones de estireno, tomando muestras de orina al finalizar la jornada de trabajo.

Se observa que los niveles de ácido fenilgloxílico y ácido mandélico se ven aumentados en los trabajadores expuestos a estireno.

## COMENTARIO

A pesar de que el número de muestras es reducido, aparentemente el ácido fenilgloxílico y ácido mandélico servirían como

un buen índice de exposición al estireno. Sería necesario hacer un estudio más acucioso y extenso para ver el grado de corre-

lación entre la concentración de ácido mandélico y ácido fenilgloxílico a concentraciones más altas a estireno.

**TABLA 2**

Número trabajadores	Concentración estireno	Acido fenilgloxílico	Acido mandélico
	p.p.m.	mg/l	mg/l
12	5 - 10	71 (45 - 131)	79 (50 - 117)
2	0	7,8 (7.3 - 8.3)	28,8 (28.5 - 29)

En todo caso los resultados concuerdan, aunque a niveles más bajos, con los obtenidos por Ieda e Ohtsuji (5), quienes encontraron los siguientes valores:

**TABLA 3**

Concent. estireno	Acido fenilgloxílico	Acido mandélico
p.p.m.	mg/l	mg/l
10-30	381 (298-487)	875 (505-1515)
7-20	287 (183-449)	473 (319- 702)
1-20	201 (163-263)	310 (189- 518)
1	98 ( 46-213)	137 ( 49- 385)
0	10 ( 11- 44)	92 ( 47- 178)

Los valores obtenidos en nuestro laboratorio son más bajos y, en especial, los del ácido mandélico. Sería necesario establecer los niveles de referencia representativos de los promedios de la población chilena, ya que estos metabolitos pueden variar por diversos factores (nutrición, productos químicos, etc.).

En todo caso, basándose en los valores encontrados en la literatura, Tabla 1, y siendo para nosotros de especial interés las exposiciones cercanas o sobre los límites permisibles, se ha tomado como nivel urinario biológico reglamentario de ácido mandélico 2.000 mg/l referidos a una exposición semanal de 48 horas a 80 ppm. y ajustado a una densidad de orina de 1.024.

El desconocimiento de los efectos carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos del estireno (4), han inducido a muchos autores a proponer en forma transitoria como nivel más segura un CAMP de 12 ppm. y un nivel de ácido mandélico en orina de 300 mg/l.

## REFERENCIAS

- 1.— Mutagenesis, teratogenesis and carcinogenesis in man. *Scand. j. Work environ, health* 4 (1978): suppl. 2, 229-264.
- 2.— Reglamento sobre concentraciones ambientales máximas permisibles en los lugares de trabajo. Ministerio de Salud. Servicio Nacional de Salud, Decreto N° 19 del 14 de enero de 1976.
- 3.— GOTELL, P. AXELSON, O and LINDELOR, B.— Field studies on human styrene exposure. *Work-environm - hith* 9 (1972) 75-83.
- 4.— Zdenek Bardodej, Styrene, its metabolism and the evaluation of hazards in industry. *Scandinavian j. Work, environ, health* 4 (1978): suppl. 2, 95-103.
- 5.— HATSUE OHTSUJI and MASAYUKI IKEDA.— A rapid colorimetric method for the determination of phenylglyoxylic and mandelic acids. *Brit. j. Industr. Med.*, 1970 (27) 150-154.
- 6.— GUILLEMIN, M. P.; BAUER, D.; HOTZ, P. A.; LOB, M. and GREUTER, W. F.— Monitoring of styrene exposure in the polyester industry. *Scand. j. Work environ, health* 4 (1978): suppl. 2, 14-21.