

Stanovení kyseliny S-fenylmerkapturové v moči metodou GC/MS-NCI

I.Šperlingová, L. Dabrowská, V.Stránský, M.Tvrdíková
sperling@szu.cz

Státní zdravotní ústav Praha

Stanovení kyseliny S-fenylmerkapturové se využívá k biologickému monitorování profesionální expozice benzenu.

Benzen – významná chemická škodlivina, snižování expozice patří mezi důležité úkoly při ochraně zdraví.

Vedle měření **inhalační expozice** (stanovení benzenu v pracovním ovzduší, PEL 3 mg/m³) je možné i **biologické monitorování**.

Je možné stanovovat **benzen v krvi** (např. SRN),

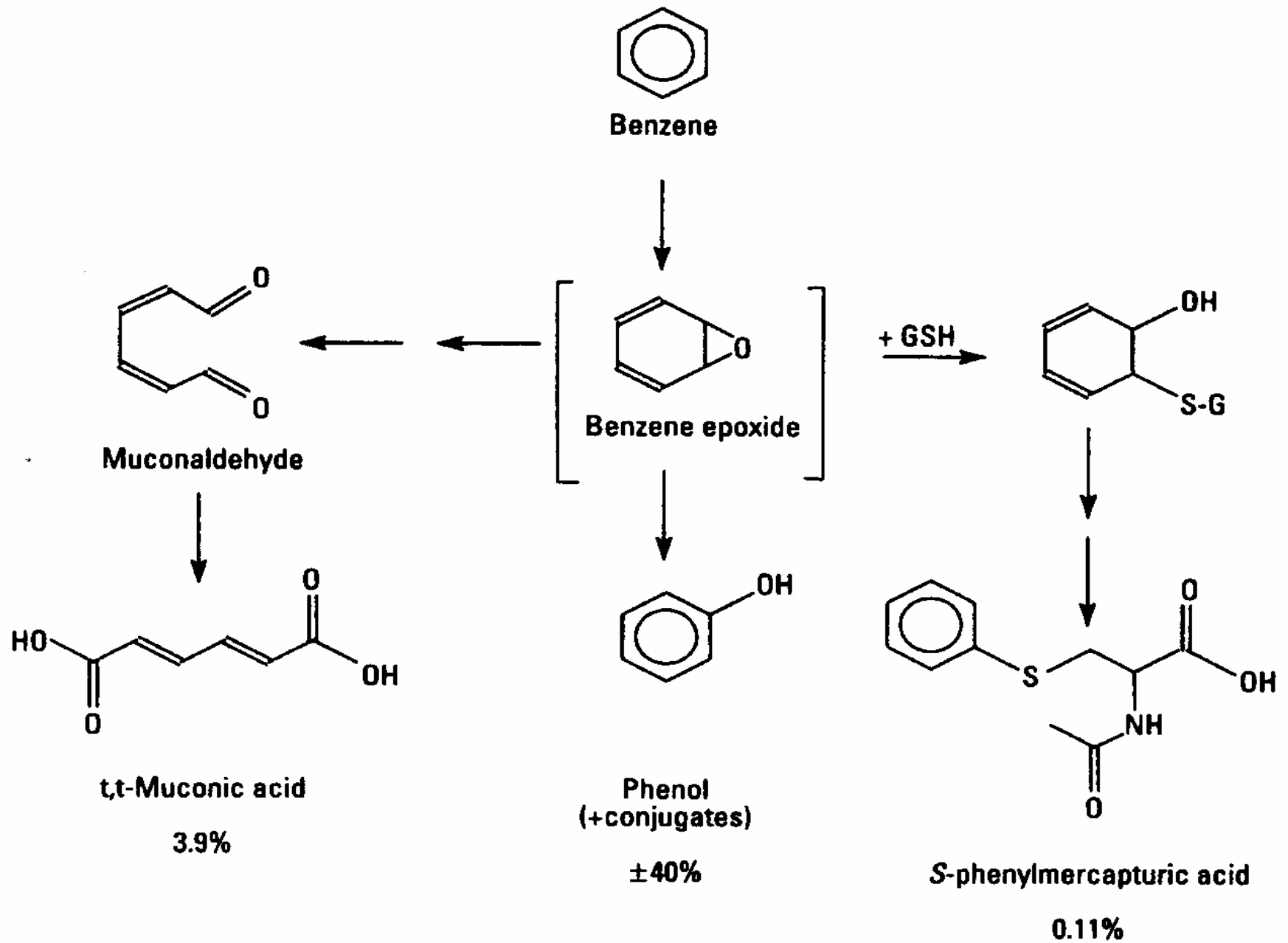
2 metabolity v moči – kyselina mukonová (méně specifická) a S-PMA (vysoce specifický ukazatel)

Merkapturové kyseliny

vznikají konjugací xenobiotika s glutathionem (GSH)

samovolně nebo za přítomnosti glutathiontransferáz.

GSH je tripeptid Gly-Cys-Glu.



Vyhláška 432/2003 Sb.

stanoví podmínky pro zařazování prací do kategorií, limitní hodnoty ukazatelů biologických expozičních testů, podmínky odběru biologického materiálu pro provádění biologických expozičních testů a náležitosti hlášení prací s azbestem a biologickými činiteli.

BIOMARKERY EXPOZICE BENZENU

stát	limit pro ovzduší	ukazatel	ukazatel
		kyselina mukonová	kyselina S-fenylmerkapturová
USA	0,5 ppm	0,5 mg/g kreatininu	0,025 mg/g kreatininu
Finsko	1 ppm	2 mg/l	nemá
Německo	1 mg/m ³	1,3 mg/l	0,01 mg/g kreatininu
Kanada	1 ppm	1,5 mg/g kreatininu	nemá
ČR	3 mg/m ³	0,5 mg/g kreatininu (návrh)	0,05 mg/g kreatininu

koncentrace benzenu ve vzduchu		koncentrace benzenu v krvi	koncentrace kyseliny S-fenylmerkapturové v moči	koncentrace kyseliny t,t-mukonové v moči
(ml/m ³)	(mg/m ³)	(µg/l)	(mg/g kreatininu)	(mg/l)
0,3	1	0,9	0,01	-
0,6	2	2,4	0,025	1,6
0,9	3	4,4	0,040	-
1	3,3	5	0,045	2
2	6,5	14	0,090	3
4	13	38	0,180	5
6	19,5	-	0,270	7

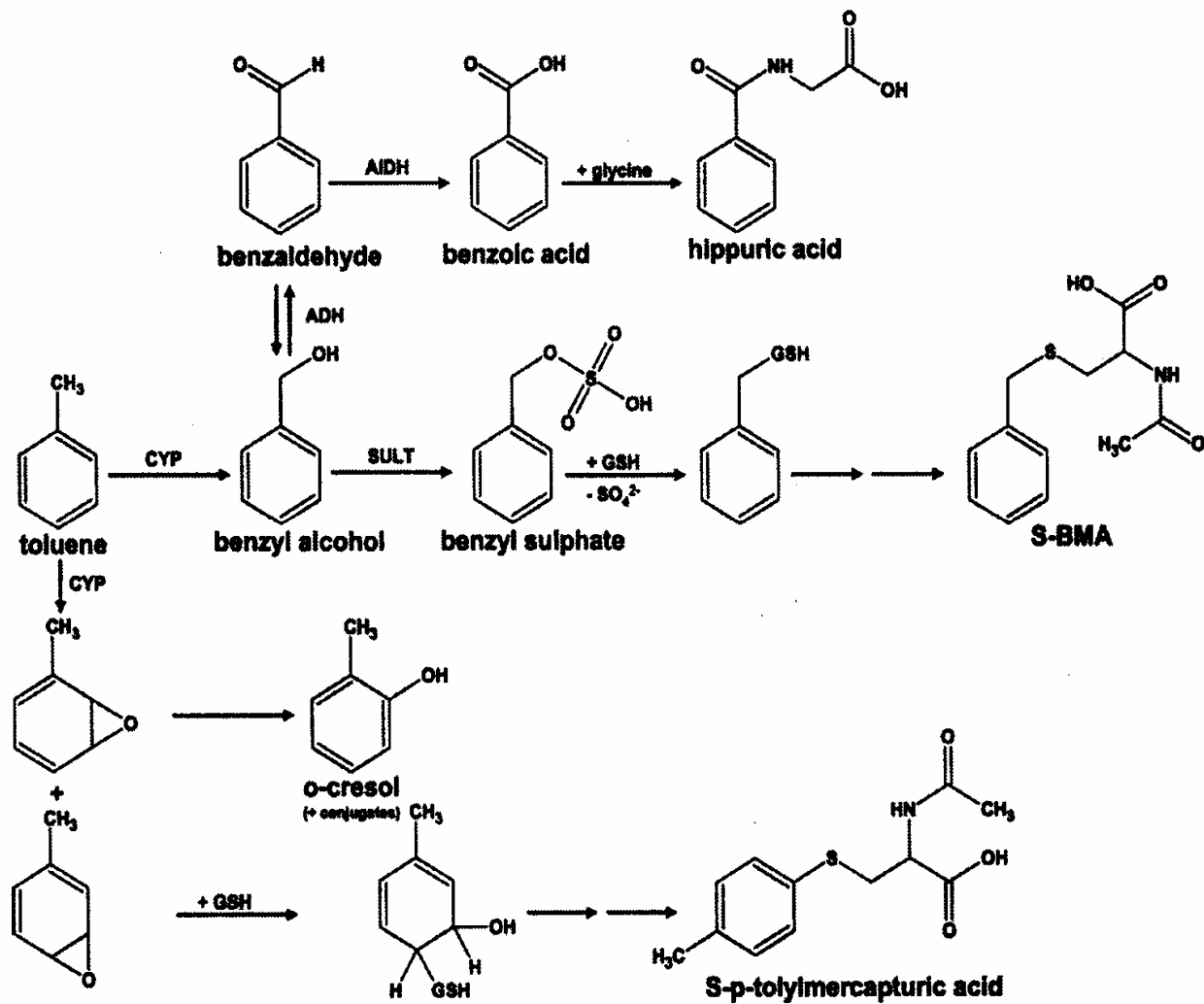


Fig. 2. Metabolic pathways of toluene. CYP, cytochrome P 450; SULT, sulfotransferases; ADH, alcohol dehydrogenase; AIDH, aldehyde dehydrogenase and GSH, glutathione.

Metody stanovení

- **Imunochemické metody (Ing. Vraspír)**
- **LC s MS technikami**
- **GC s MS technikami**

(Aston, Biomarkers, 2002)

GC stanovení s MS detekcí

extrakce do rozpouštědla – ethylacetátu
derivatizace – pentafluorobenzylbromid

kyselina	hmoty derivátů	retenční čas
S-PMA	238	17,31
S-BMA	252	17,95
S-TMA	252	18,16
F-S-PMA	256	17,11

GC stanovení s MS detekcí

Podmínky chromatografické analýzy:

NCI – negativní chemická ionizace

chromatografická kolona: DB 5-MS 30m x 250 μ m x 0,25 μ m

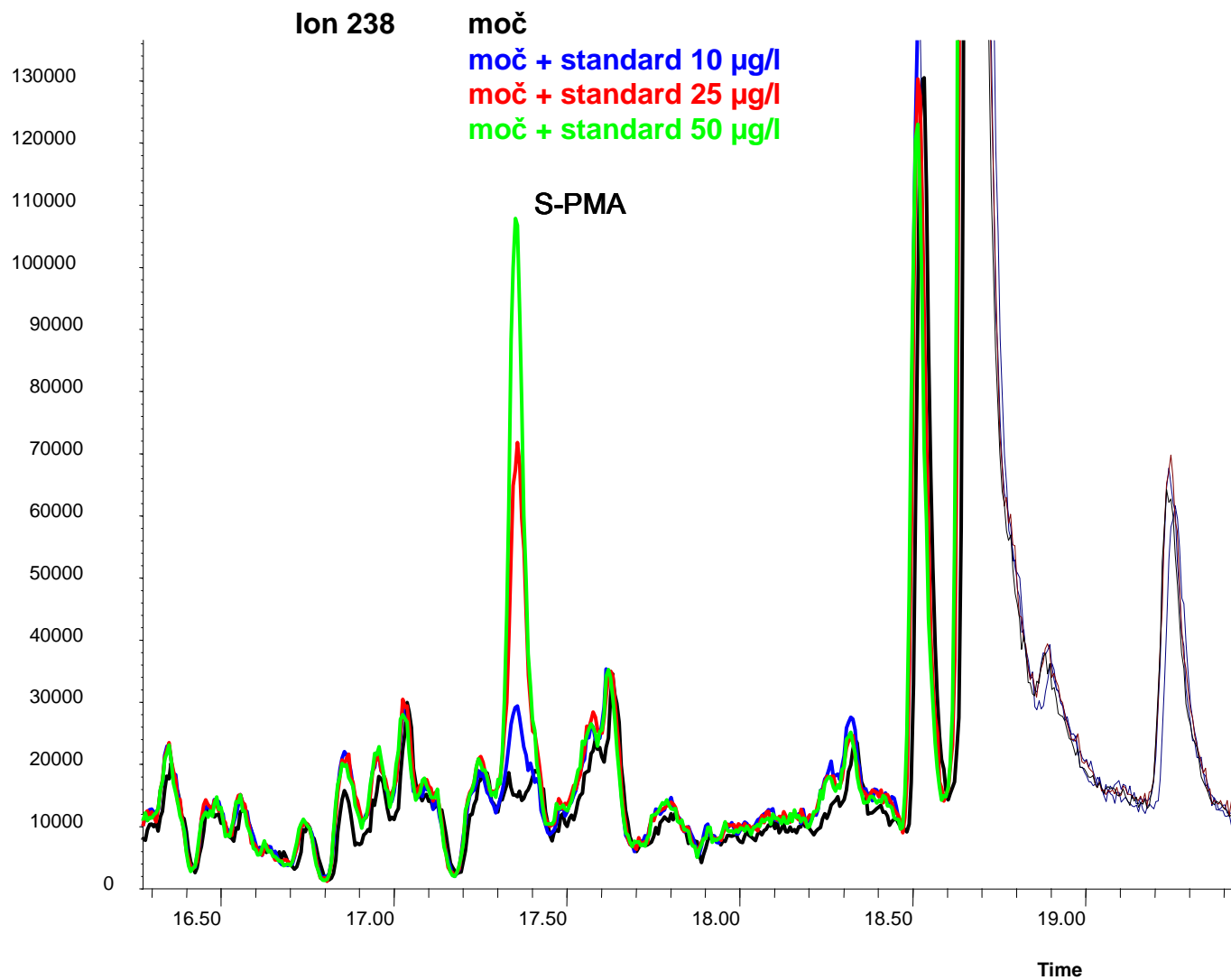
**teplotní program: 70 $^{\circ}$ C 2 min., 20 $^{\circ}$ C/min. R1 230 $^{\circ}$ C, R2 240 $^{\circ}$ C,
R3 270 $^{\circ}$ C**

scan:50-600 amu

nástřik: 1 μ l, splitless

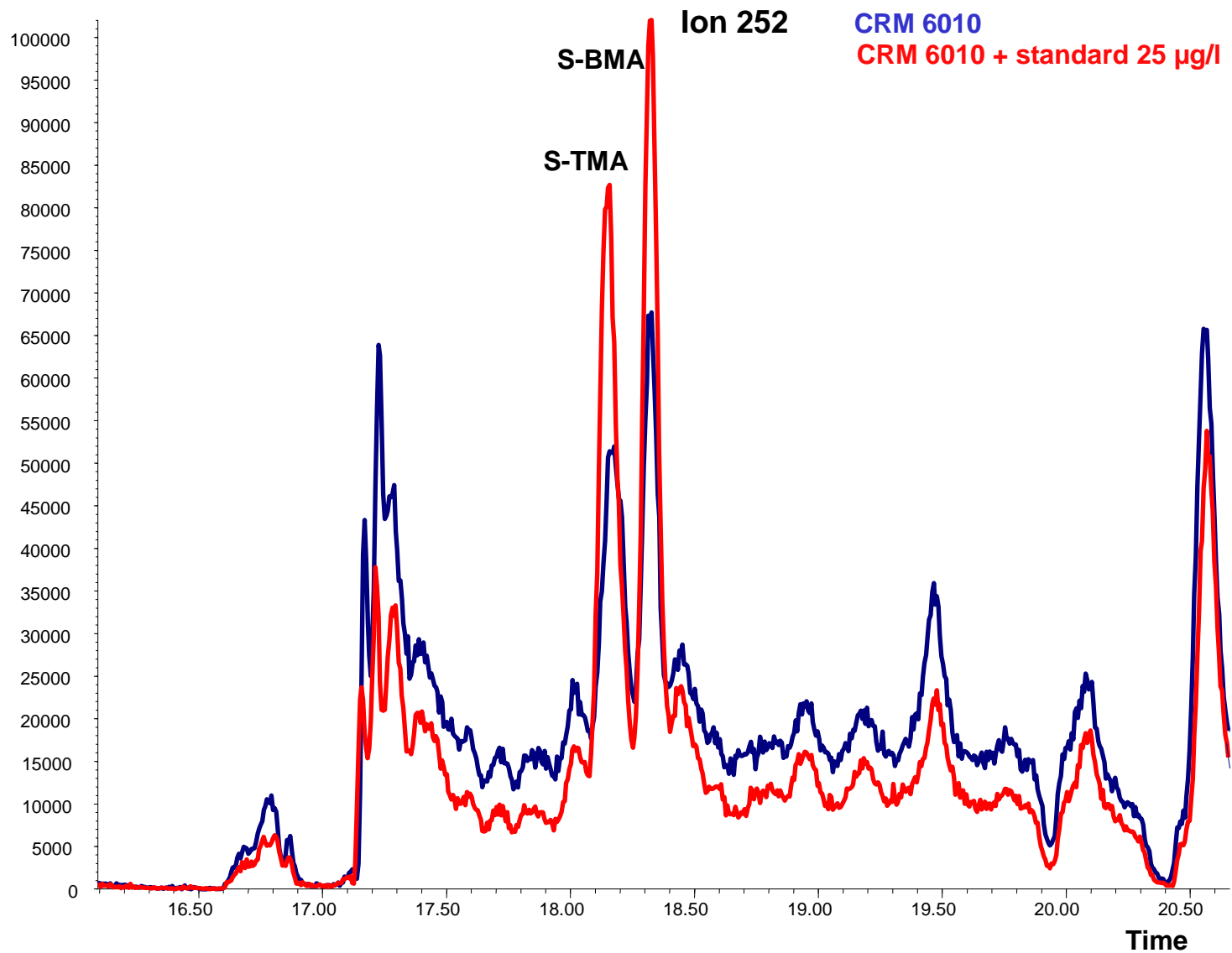
GC/MS (NCI) stanovení kyseliny S-fenylmerkapturové

Abundance



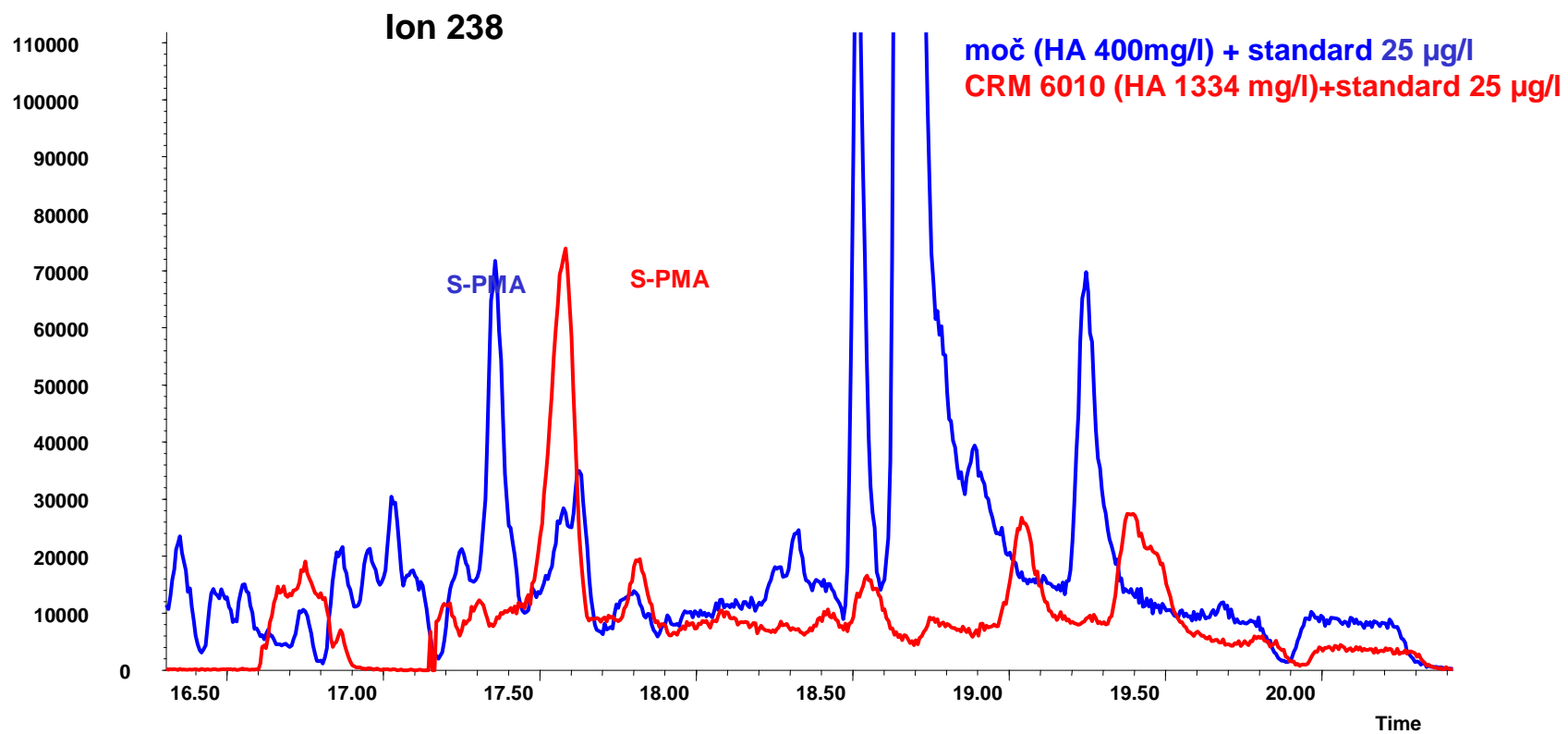
GC/MS (NCI) stanovení kyseliny S-tolyl- a S- benzylmerkapturové

Abundance



Vliv koncentrace kyseliny hippurové na retenční čas S-PMA

Abundance



Vliv koncentrace kyseliny hippurové na retenční čas S-TMA a S-BMA

Ion 252

moč (HA 400 mg/l) + standard 25 µg/l

CRM 6010 (HA 1334 mg/l)

CRM 6010 + standard 25 µg/l

Abundance

