

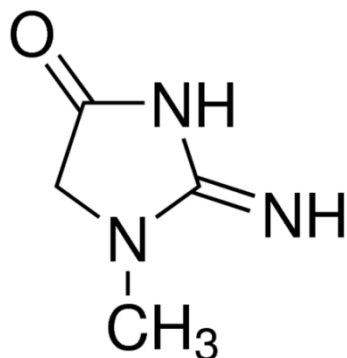
Biologické expoziční testy

Oddělení pro hodnocení expozice
chemickým látkám na pracovištích
SZÚ, Praha



Dušková Š.

Kreatinin



Kreatinin - vztažná veličina pro hodnocení expozice cizorodým látkám v moči, všechny limitní hodnoty BET ve vyhlášce 107/2013 Sb. jsou vztaženy na g kreatininu koncentrační rozmezí pro hodnocení od 0,3 g/l do 3 g/l

Stanovení: spektrofotometrická Jaffeho metoda
enzymová metoda
kapilární elektroforéza
vysokoučinná chromatografie na tenké vrstvě (HPTLC)
vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)

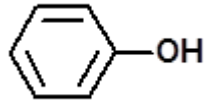
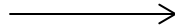
Metoda stanovení – HPLC - izokratická eluce na koloně Hema Bio 3 x 150 mm, detekce při 234 nm, kreatinin se stanovuje v moči přímo po naředění, LOQ = 0,006 g/l

Metoda je akreditovaná, každoroční úspěšná účast v MZP (EQUAS)

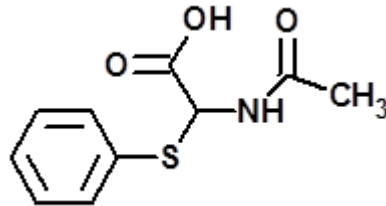
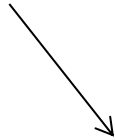
Kyselina t,t-mukonová



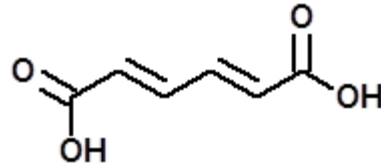
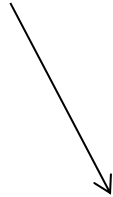
Benzen



Fenol (60%)



S-Fenylmerkapturová kyselina (1%)



Kyselina mukonová (3-18%)

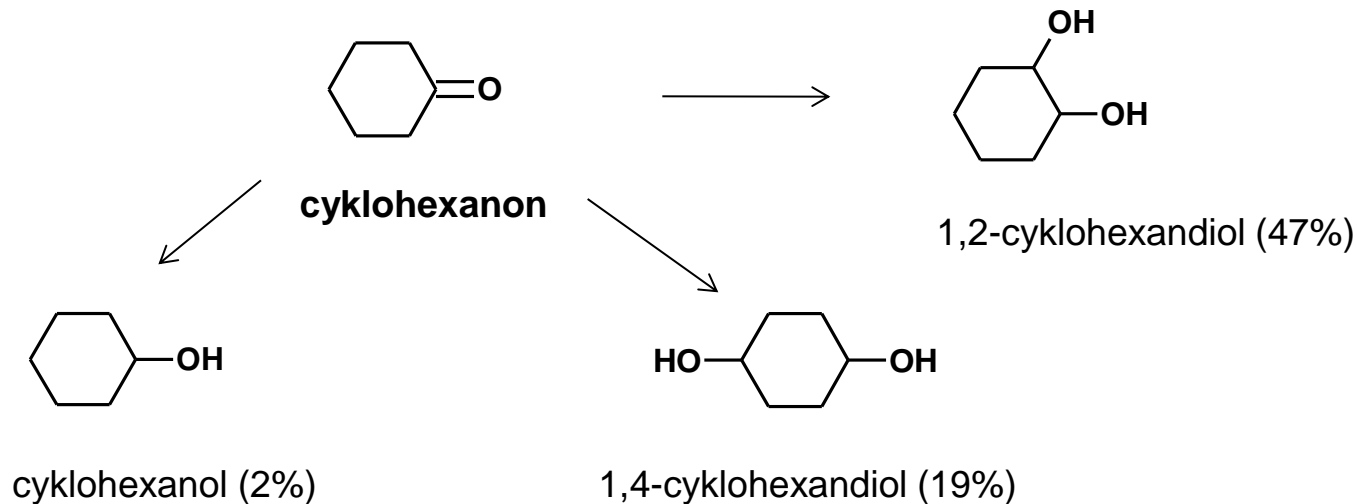
Kyselina t,t-mukonová – ukazatel expozice benzenu (BET 1,5 mg/g kreat.)

Stanovení – po okyselení vzorku moče extrakce do diisopropyletheru, odpaření, rozpuštění v pufru, stanovení technikou HPLC-UV gradientovou elucí na koloně Zorbax Eclipse® XDB-C8, 4,6 x 150mm, 5 µm, detekce při 259 nm, LOQ = 0,1 mg/l

Metoda je akreditovaná, každoroční úspěšná účast v MZP (EQUAS)

Plán pro rok 2019 - zavedení metody stanovení kyseliny S-fenylmerkapturové

1,2-Cyklohexandiol

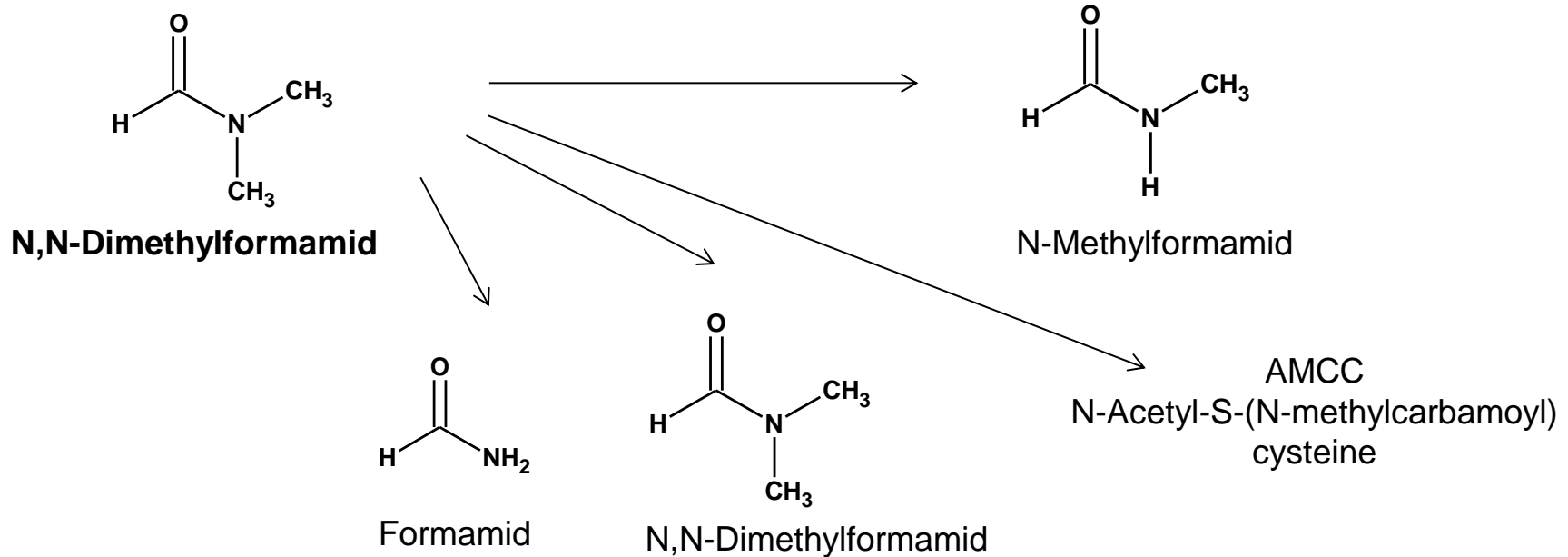


1,2-cyklohexandiol – ukazatel hodnocení expozice cyklohexanonu (BET 50 mg/g kreat.)

Stanovení - kyselá hydrolyza moči 60 min při 100°C, neutralizace hydroxidem draselným, nasycení uhličitánem draselným, extrakce do acetonu s vnitřním standardem p-dichlorbenzenem, analýza acetonové vrstvy technikou GC-FID na polární koloně DB WAX

Neakreditovaná zkouška, zavedená v roce 2011 na přání zákazníka

N-Methylformamid

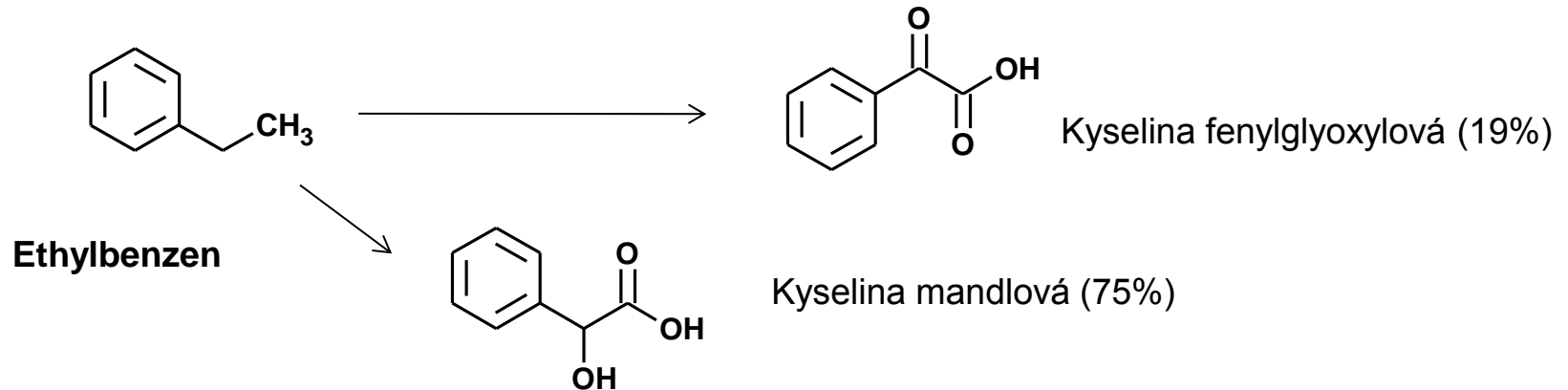


N-Methylformamid - ukazatel expozice N,N-dimethylformamidu (BET 15 mg/g kreat.)

Stanovení - extrakce do ethanolu vysolením uhličitanem draselným a následné stanovení metodou GC-NPD na koloně DB WAX.

Metoda není akreditovaná, každoroční úspěšná účast v MZP (EQUAS)

Kyselina mandlová



Kyselina mandlová - ukazatel expozice ethylbenzenu (BET 1500 mg/g kreat.)

**Stanovení - přímo z moči po naředění, technikou HPLC-UV, isokratickou elucí MeOH:fosfátový pufr 25%:75% na koloně Zorbax Eclipse® XDB-C8, 4,6 x 150mm, 5 µm
vnitřní standard kyselina 3-hydroxybenzoová
při 220 nm, LOQ = 26,7 mg/l
metoda společná pro ostatní karboxylové kyseliny (hippurová, fenyglyoxylová a methylhippurové)**

Metoda je akreditovaná, každoroční úspěšná účast v MZP (EQUAS)

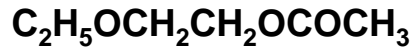
Kyselina ethoxy- a butoxyoctová



Ethylenglykolmonoethylether (EGEE, 2-ethoxyethanol)



ethoxyoctová kyselina



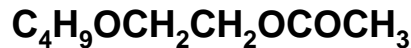
Ethylenglykolmonoethyletheracetát (EGEEAc, 2-ethoxyethylacetát)



Ethylenglykolmonobutylether (EGBE, 2-butoxyethanol)



butoxyoctová kyselina



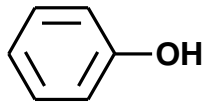
Ethylenglykolmonobutyletheracetát (EGBEAc, 2-butoxyethylacetát)

**Alkoxykyseliny – ukazatele expozice glykoetherům nebo jejich acetátům
(BET pro EAA 50 mg/g kreat. a pro BAA 200 mg/g kreat.)**

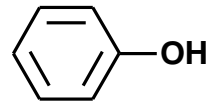
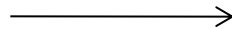
**Stanovení – kyselá hydrolyza moče, extrakce do ethylacetátu, derivatizace
N-tert.-butyldimethylsilyl-N-methyltrifluoroacetamidem (MTBSTFA) a stanovení
GC/MS, LOQ = 0,68 mg/l pro EAA, LOQ = 1,35 mg/l pro BAA**

Metoda je akreditovaná, každoroční úspěšná účast v MZP (EQUAS)

Fenol



Fenol



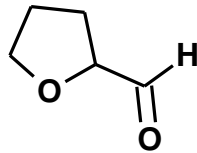
Fenol konjugovaný
s kyselinou sírovou nebo
glukuronovu (99%)

Fenol- ukazatel expozice fenolu (BET 300 mg/g kreat.)

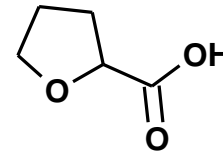
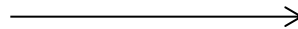
**Stanovení - kyselá hydrolýza moče, extrakce do diisopropyletheru, stanovení metodou GC-FID na koloně DB-5MS, LOQ = 0,92 mg/l
metoda společná pro stanovení o-kresolu**

Metoda je akreditovaná, problémy s účastí v MZP (EQUAS), vylepšení metody – derivatizace (silylace – činidlo MTBSTFA, MSTFA), stanovení na GC-MS

Kyselina pyroslizová (2-furoová)



Fural



Kyselina pyroslizová (2-furoová)

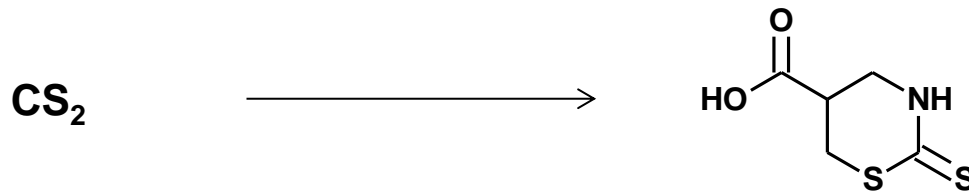
Kyselina pyroslizová - ukazatel expozice fural (BET 200 mg/g kreat.)

Stanovení - alkalická hydrolyza, neutralizace, extrakce do ethylacetátu, odpaření a rozpuštění v fosfátovém pufru a stanovení technikou HPLC-UV (gradientová eluce) při 254 nm (alternativa stanovení ethylacetátového extraktu metodou GC-FID)

LOQ = 0,04 mg/l

Metoda je akreditovaná, nejsou MPZ, neprovádí se

Kyselina 2-thiothiazolidin-4-karboxylová



Sirouhlík

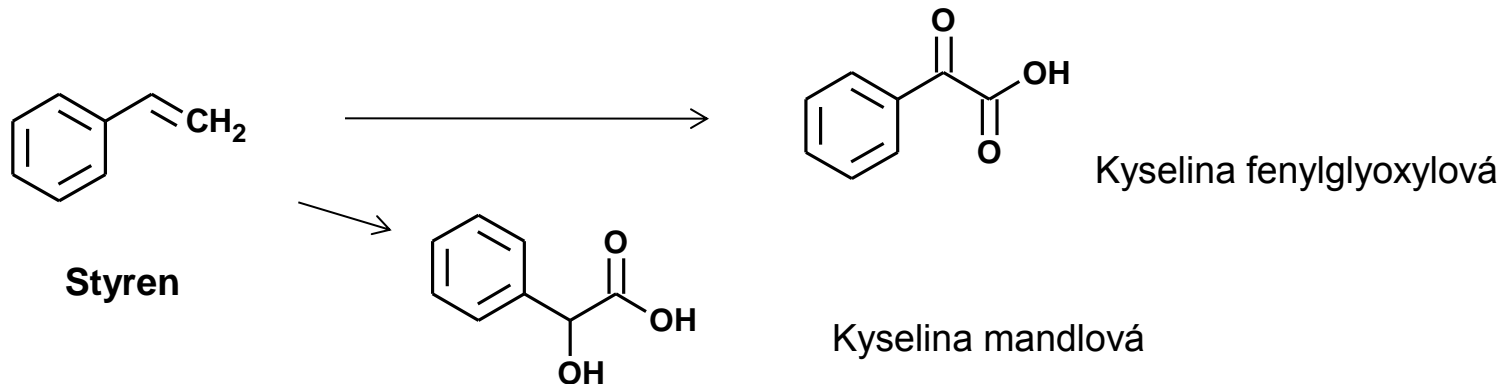
Kyselina 2-thiothiazolidin-4-karboxylová (TTCA)

Kyselina 2-thiothiazolidin-4-karboxylová– ukazatel expozice sirouhlíku (BET 1,5 mg/g kreat.)

Stanovení – po okyselení vzorku moče extrakce do diisopropyletheru, odpaření, rozpuštění v pufru, stanovení technikou HPLC-UV gradientovou elucí na koloně Zorbax Eclipse® XDB-C8, 4,6 x 150mm, 5 µm, detekce při 259 nm, LOQ = 0,3 mg/l

Metoda je akreditovaná, každoroční úspěšná účast v MZP (EQUAS)

Kyselina mandlová a fenylglyoxylová

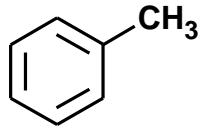


**Kyselina mandlová a fenylglyoxylová - ukazatele expozice ethylbenzenu
(BET MK 600 mg/g kreat. nebo součet obou 600 mg/g kreat.)**

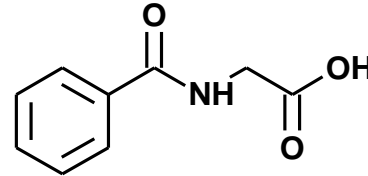
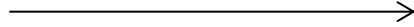
Stanovení - přímo z moči po naředění, technikou HPLC-UV, isokratickou elucí MeOH:fosfátový pufr 25%:75% na koloně Zorbax Eclipse® XDB-C8, 4,6 x 150mm, 5 µm, vnitřní standard kyselina 3-hydroxybenzoová, kyselina mandlová detekce při 220 nm, LOQ = 26,7 mg/l kyselina fenylglyoxylová detekce při 254 nm, LOQ = 0,9 mg/l společně s kyselinou hippurovou a kyselinami methylhippurovými

Metoda je akreditovaná, každoroční úspěšná účast v MZP (EQUAS)

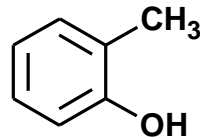
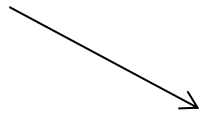
Kyselina hippurová



Toluen



Kyselina hippurová



o-Kresol

Kyselina hippurová – ukazatel expozice toluenu (BET 1600 mg/g kreat.)

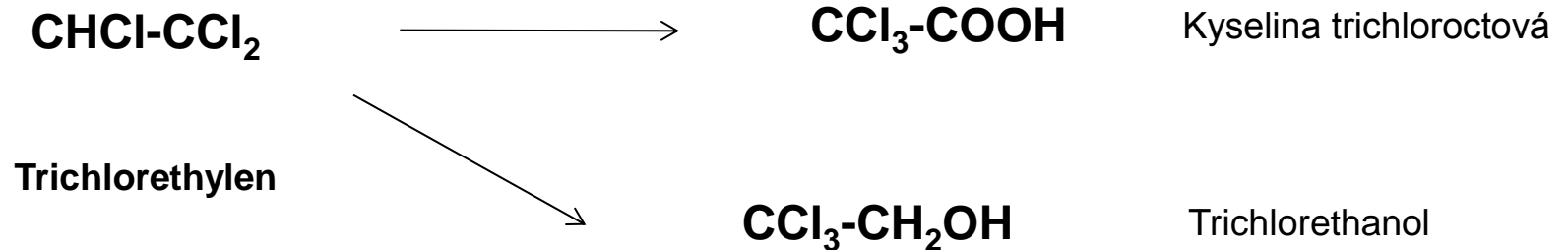
**Stanovení - přímo z moči po naředění, technikou HPLC-UV, isokratickou elucí MeOH:fosfátový pufr 25%:75% na koloně Zorbax Eclipse® XDB-C8, 4,6 x 150mm, 5 µm, vnitřní standard kyselina 3-hydroxybenzoová
detekce při 225 nm, LOQ = 11,4 mg/l**

o-Kresol - ukazatel expozice toluenu (BET 1,5 mg/g kreat.)

**Stanovení - kyselá hydrolyza moče, extrakce do diisopropyletheru, stanovení metodou GC-FID na koloně DB-5MS, LOQ = 0,27 mg/l
metoda společná pro stanovení fenolu**

Obě metody jsou akreditované, stanovení kyseliny hippurové - každoroční úspěšná účast v MZP (EQUAS)

Kyselina trichloroctová



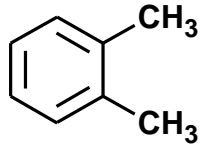
Ukazatele expozice trichlorethylenu - trichlorethanol (BET 200 mg/g kreat.)
- kyselina trichloroctová (BET 100 mg/g kreat.)

Stanovení trichlorethanolu - kyselá hydrolyza moči 30 min při 100°C, extrakce do sirouhlíku s vnitřním standardem nitrobenzenem, analýza sirouhlíkové fáze metodou GC-FID na polární koloně DB WAX

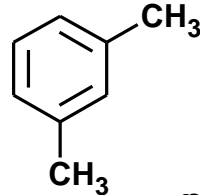
Stanovení kys. trichloroctové – derivatizace fluoridem boritým v methanolu na methylester, extrakce do toluenu, analýza metodou GC/MS na koloně DB-5MS, LOQ = 0,3 mg/l

Metoda stanovení kyseliny trichloroctové je akreditovaná, každoroční úspěšná účast v MZP (EQUAS)

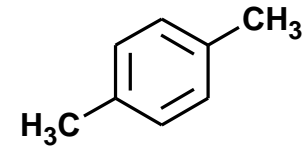
Kyseliny methyhippurové



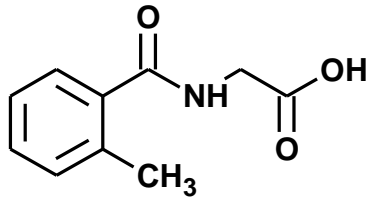
o-Xylen



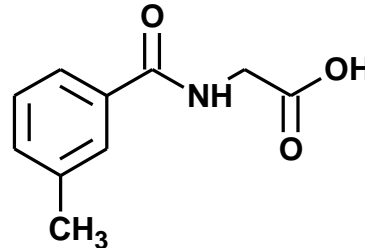
m-Xylen



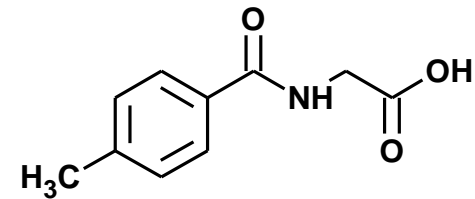
p-Xylen



Kyselina *o*-methylhippurová



Kyselina *m*-methylhippurová



Kyselina *p*-methylhippurová

Kyseliny methyhippurové - ukazatele expozice xylenům (BET 1400 mg/g kreat.)

Stanovení - přímo z moči po naředění, technikou HPLC-UV, isokratickou elucí MeOH:fosfátový pufr 25%:75% na koloně Zorbax Eclipse® XDB-C8, 4,6 x 150mm, 5 μm

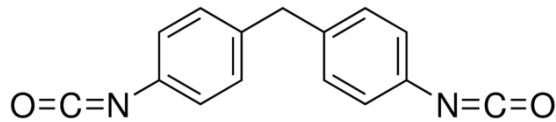
vnitřní standard kyselina 3-hydroxybenzoová

při 225 nm, LOQ = 15,0 mg/l

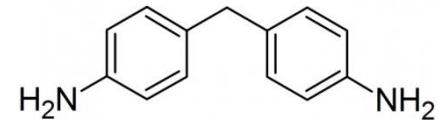
metoda společná pro ostatní karboxylové kyseliny

Metoda je akreditovaná, každoroční úspěšná účast v MZP (EQUAS)

4,4'-Methyldifenyldiamin (4,4'-MDA)



4,4'-Methyldifenyldiisokyanát



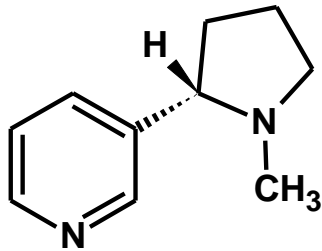
4,4'-Methyldifenyldiamin

4,4'-Methyldifenyldiamin – ukazatel expozice 4,4'-methyldifenyldiisokyanátu nebo 4,4'-methyldifenyldiaminu (BET není stanoven)

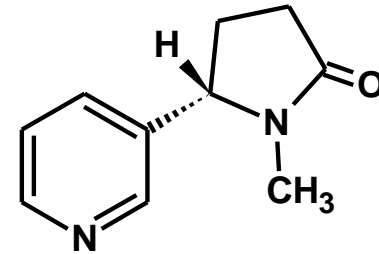
Stanovení – kyselá hydrolýza moče, neutralizace, extrakce do toluenu, derivatizace činidlem HFBA (anhydrid kyseliny heptafluoromáselné), analýza metodou GC/MS na koloně DB-5MS, v modu negativní chemické ionizace, LOQ = 0,1 ug/l

Metoda je akreditovaná, univerzální pro další diaminy (2,2'-MDA, 2,4'-MDA, 2,4-TDA, 2,6-TDA, 1,6-HDA, 1,5-NDA, IPDA), úspěšná účast v MZP (EQUAS)

Kotinin



Nikotin



Kotinin

Kotinin – jeden z ukazatelů expozice nikotinu (tabákovému kouři)

hlavní metabolit nikotinu, přeměna v játrech – až 90%, poločas vylučování 20 hodin

další možné biomarkery – nikotin, oxid uhelnatý, thiokyanáty, adukty 4-amino-bifenyly, adukty PAU, specifické nitrosaminy

Stanovení – extrakce dichlormethanem, vysušení a rozpuštění v toluenu, analýza metodou GC/MS na koloně DB-5MS, LOQ = 0,4 ug/l

(alternativní metody plynová chromatografie s NPD, HPLC-UV, HPLC- MS, ELISA)

Metoda byla zavedena v rámci účasti na projektu EU v letech 2010-2012 DEMOCOPHES pro hodnocení životního prostředí ve státech EU, posouzení aktivního a pasivního kouření

Metoda je akreditovaná

N-(2-hydroxyethyl)valinu (HEV)

N-(2-hydroxyethyl)valinu v globulinu (HEV) – ukazatel expozice ethylenoxidu, expoziční test z krve, tabulka č. 2, příloha 2, vyhláška 107/2013 Sb.

Shrnutí na závěr

Laboratoř pro hodnocení expozice chemickým látkám na pracovišti , SZÚ

- provádí 13 BET v moči z vyhlášky 107/2013 Sb. z toho 11 metod akreditovaných ČIA
- další 2 BET neuvedené ve vyhlášce
- účast na MPZ: v systému G-EQUAS (Německo) jako referenční laboratoř, zejména pro metody akreditované ČIA
- instrumentální vybavení laboratoře: GC-FID, NPD, GS-MS, HPLC-UV a HPLC-MSMS

děkuji za vaši pozornost