

**A NEW METHOD USING GAS CHROMATOGRAPHY FOR
DETERMINATION OF URINARY MANDELIC AND
PHENYLGLYOXYLIC ACIDS RESULTING FROM
LOW LEVEL STYRENE EXPOSURE**

NITIYA KONGKHWANMUANG

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(INDUSTRIAL HYGIENE AND SAFETY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2004**

**ISBN 974-04-4672-8
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

วิธีวิเคราะห์กรดแมนเดิลิก และกรดฟีนิลไกลออกซาลิก ของสไตรีนในปัสสาวะจากการสัมผัสสไตรีนระดับต่ำด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี

(A NEW METHOD USING GAS CHROMATOGRAPHY FOR DETERMINATION OF URINARY MANDELIC AND PHENYLGLYOXYLIC ACIDS RESULTING FROM LOW LEVEL STYRENE EXPOSURE)

นิตยา คงขวัญเมือง 4336604 PHIH/M

วท.ม. (สุขศาสตร์อุตสาหกรรมและความปลอดภัย)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : พรพิมล กองทิพย์, Ph.D. (Occ.H.Sc.), วิทยา อยู่สุข, D.Eng. (Process Engineer), สุทธินันท์ ฉันทรัตนกุล, M.D., วชิระ สิงหเสนทร์, M.A. (Demography)

บทคัดย่อ

สไตรีนเป็นสารเคมีอันตราย ซึ่งจะถูกเมตาโบไลต์ภายในร่างกายและกำจัดออกทางปัสสาวะในรูปของกรดแมนเดิลิก และกรดฟีนิลไกลออกซาลิก การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณกรดแมนเดิลิก และกรดฟีนิลไกลออกซาลิกของสไตรีนในปัสสาวะโดยการเตรียมอนุพันธ์ของเอทานอลด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีภายใต้ขั้นตอนการเตรียมอนุพันธ์ด้วยเอทานอลในกรดไฮโดรคลอริก การพัฒนาวิธีดังกล่าว ใช้กรดไตรดีคาโนอิกเป็นสารอินทอนอลสแตนด์การ์ด ตัวอย่างปัสสาวะจะถูกปรับสภาพให้เป็นกรดด้วยกรดซัลฟูริก และสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต ซึ่งตัวอย่างปัสสาวะนี้จะถูกเตรียมอนุพันธ์และสกัดด้วยคลอโรฟอร์มอีกครั้ง แล้วจึงทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี การศึกษานี้ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของขั้นตอนการเตรียมอนุพันธ์และประสิทธิภาพของสารละลายที่ใช้ในการสกัดปัสสาวะด้วย เช่น ความเข้มข้นของปริมาณกรดไฮโดรคลอริก, อุณหภูมิ และระยะเวลาที่เหมาะสมที่สามารถให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการวิเคราะห์ หลังจากนั้นจะถูกจำแนกอนุพันธ์ดังกล่าวเครื่องเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีชนิดเมสสเปคโตรโฟโตเมทรี ซึ่งเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีที่ได้ศึกษานี้จะทำการทดสอบความเที่ยงตรง, ความแม่นยำ และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้โดยการเก็บตัวอย่างปัสสาวะในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตกาว และนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคดังกล่าว

ผลการศึกษาพบว่า กรดแมนเดิลิก และกรดฟีนิลไกลออกซาลิกสามารถวิเคราะห์ได้ที่ระยะเวลา 6.7 นาที และ 7.3 นาที ตามลำดับ สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมอนุพันธ์ของกรดแมนเดิลิกและกรดฟีนิลไกลออกซาลิกคือ ปริมาณความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก 2.5% ในเอทานอล และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 60 นาที ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์กรดแมนเดิลิก และกรดฟีนิลไกลออกซาลิกได้ คือ 0.008 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 0.081 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีที่ศึกษานี้มีความแม่นยำและเที่ยงตรงเพียงพอ และเหมาะสมที่จะนำไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณกรดแมนเดิลิกที่ความเข้มข้น 0.24-0.72 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (103-104%; 4-9% CV) และกรดฟีนิลไกลออกซาลิกที่ความเข้มข้น 0.405-1.215 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (98-101%; 5% CV) การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบเทคนิคดังกล่าว โดยการเก็บตัวอย่างปัสสาวะจากกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพนักงานที่สัมผัสสไตรีนในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตกาวจำนวน 47 คน จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ปริมาณกรดแมนเดิลิกในปัสสาวะและการสัมผัส สไตรีนในบรรยากาศการทำงานมีความสัมพันธ์กันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 % ($t=0.82, p<0.05$)

A NEW METHOD USING GAS CHROMATOGRAPHY FOR DETERMINATION OF URINARY MANDELIC AND PHENYLGLYOXYLIC ACIDS RESULTING FROM LOW LEVEL STYRENE EXPOSURE

NITIYA KONGKHWANMUANG 4336604 PHIH/M

M.Sc. (INDUSTRIAL HYGIENE AND SAFETY)

THESIS ADVISORS: PORNPIMOL KONGTIP, Ph.D., WITAYA YOOSOOK, D.Eng., SUTTINUN CHANTANAKUL, M.D., VAJIRA SINGHAKAJEN, M.A.

ABSTRACT

Styrene is a toxic substance that is metabolized in the body and excreted in urine. It can be detected in its metabolized form as mandelic and phenylglyoxylic acids. The purpose of this study was to develop a simple and reliable gas chromatographic method for the simultaneous determination of mandelic and phenylglyoxylic acids in human urine using ethyl esterification.

In the method I developed, tridecanoic acid is used as an internal standard. The urine sample is acidified with 5% H₂SO₄ and extracted by ethyl acetate. Then, the sample is derivatized by the ethyl esterification process, re-extracted with chloroform, and analyzed by gas chromatography/flame ionization detector equipped with a DBTM-1 capillary column. In assessing this method, the extraction efficiency of solvents and optimal conditions for ethyl esterification procedure were investigated. Then, the derivatives of mandelic and phenylglyoxylic acids were identified by gas chromatography/mass spectrometry. The accuracy, precision, and detection limit of this method were also tested in the laboratory and then it was applied to test urine samples in the field.

The method was tested in the laboratory as follows. The retention times of mandelic and phenylglyoxylic acids were 6.7 and 7.3 minutes, respectively. The optimal esterification condition was 2.5% concentration of hydrochloric acid in ethanol, heated at 60 °C for 60 minutes. The detection limits were 0.008 mg/ml for mandelic acid and 0.081 mg/ml for phenylglyoxylic acid and their recoveries were about 103-104% and 98-101%, while the between-day coefficient of variations were from 4-9% and about 5%, respectively, at a concentration range of 0.24-0.72 mg/ml for mandelic acid and 0.405-1.215 mg/ml for phenylglyoxylic acid.

In the field, this method was applied to 47 workers occupationally exposed to styrene in latex manufacturing. There was a good significant correlation between post-shift urinary mandelic acid and styrene exposure ($r = 0.82$, $p < 0.05$).

KEY WORDS: STYRENE / MANDELIC ACID / PHENYLGLYOXYLIC ACID / ETHYL ESTERIFICATION / GAS CHROMATOGRAPHY

159 pp. ISB 974-04-4672-8