

**STANOVENÍ 1-HYDROXYPYRENU  
VYSOKOÚČINNOU KAPALINOVOU  
CHROMATOGRAFIÍ  
S ELEKTROCHEMICKOU DETEKCIÍ**

**JIRÍ BAREK<sup>a</sup>, VLADIMÍR BENCKO<sup>b</sup>,  
JOSEF CVAČKA<sup>3</sup>, VIKTOR MEJSTŘÍK<sup>c</sup>,  
ALENA SLÁMOVÁ<sup>b</sup>, IVANA ŠVAGROVÁ<sup>a</sup>  
a JIRÍ ZIMA<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí, Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Karlova univerzita, Albertov 2030, 128 40 Praha 2, E-mail: Barek@prfdec.natur.cuni.cz, <sup>b</sup>Ústav hygieny a epidemiologie, 1. lékařská fakulta, Karlova univerzita, Studničkova 7, 128 00 Praha 2, <sup>c</sup>Centrum pro ekologii, toxikologii a analytiku, Výzkumný ústav organických syntéz, 532 18 Pardubice-Rybitví

Došlo dne 6.III.1997

## Úvod

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH), z nichž řada jsou prokázané či podezřelé chemické karcinogeny, patří ke značně rozšířeným polutantům životního i pracovního prostředí. Vzhledem k mimořádné škodlivosti řady látek z této skupiny je třeba jejich monitorování v našem životním prostředí věnovat zvýšenou pozornost. V řadě případů však pouhé stanovení koncentrace těchto látek v životním či pracovním prostředí neposkytuje dostatečné podklady pro vyhodnocení jejich vlivu na lidskou populaci. Mnohem významnější informace lze v tomto směru získat pomocí biologického monitorování expozice těmto chemickým karcinogenům, které může být založeno na stanovení jejich metabolitů v tělních tekutinách, zejména v moči<sup>1</sup>. Obtížnost tohoto úkolu dokumentuje např. skutečnost, že pomocí plynové chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí bylo v životním prostředí identifikováno až 100 různých PAH<sup>2</sup>, přičemž každá jednotlivá látka z této skupiny může být transformována na celou řadu metabolitů. V důsledku toho je zpravidla nutné zvolit si 2-3 typické zástupce PAH jako tzv. bioindikátory a věnovat pozornost stanovení jejich hydroxylovaných metabolitů v moči. Tak

např. v práci<sup>3</sup> byl vybrán pyren, benz[*a*]anthracen a benzo[*a*]pyren, v práci<sup>4</sup> bylo takto zkoumáno celkem 11 PAH a jejich hydroxylovaných metabolitů. V tomto případě se nejprve stanoví vybrané PAH pomocí HPLC s fluorimetrickou detekcí, poté se provede redukce přítomných metabolitů (tj. odpovídajících hydroxyderivátů) kyselinou jodovodíkovou a určí se takto vzniklé výchozí PAH. Výsledky se zpravidla vyjadřují v ( $\mu\text{g PAH} \cdot \text{mmol}^{-1}$  kreatininu, čímž se bere korekce na stupeň zředění moči. V práci<sup>5</sup> je jako vhodný bioindikátor pro monitorování individuální expozice dehtu navržen 1-hydroxypyren vzhledem k vysoké citlivosti jeho stanovení, jeho nízké hladině u neexponovaných osob a vysoké úrovni u osob exponovaných dehtu. Jongeneelen navíc prokázal dobrou korelaci mezi mutagenitou moči a obsahem 1-hydroxypyrenu<sup>6</sup> a vhodnost tohoto bioindikátoru při expozicích PAH v různých typech pracovního prostředí<sup>7</sup>. Rovněž byla prokázána výrazná korelace mezi množstvím pyrenu a 17 dalších PAH v pracovním či životním prostředí a množstvím 1-hydroxypyrenu v moči potvrzující vhodnost použití tohoto bioindikátoru<sup>8</sup>. Ve srovnání s určením mutagenity moči je stanovení 1-hydroxypyrenu levnější, specifitější a citlivější. Vzhledem k tomu, že při metabolické transformaci PAH dochází zpravidla k jejich C-hydroxylaci a že aromatické hydroxysloučeniny jsou poměrně snadno anodicky oxidovatelné, nabízí se pro mimořádně citlivé a selektivní stanovení těchto metabolitů v tělních tekutinách vysokoúčinná kapalinová chromatografie s elektrochemickou detekcí (HPLC-ED)<sup>9</sup>. Tato technika je přitom podstatně levnější nežli dosud používané metody s hmotnostně-spektrometrickou či fluorescenční detekcí, takže by mohla být širěji použitelná k monitorování expozice polycyklickým aromatickým uhlovodíkům. Z dosud publikovaných prací (viz přehled<sup>1</sup>) je patrné, že koncentrace 1-hydroxypyrenu v moči se pohybuje od 1-5 nmol.l<sup>-1</sup> u neexponovaných osob, přes 10-50 nmol.l<sup>-1</sup> u dělníků při výrobě hliníku, 100-2000 nmol.l<sup>-1</sup> u pacientů s psoriázou léčených mastmi na bázi dehtových výrobků, až po 100-10000 nmol.l<sup>-1</sup> u pracovníků exponovaných profesionálně při zpracování dehtu. Vzhledem k tomu, že typické meze detekce aromatických hydroxysloučenin pomocí HPLC-ED se pohybují kolem 100 nmol.l<sup>-1</sup>, bylo možno předpokládat, že citlivost této techniky bude často postačující i v případech biologického monitorování expozice polycyklickým aromatickým uhlovodíkům. Cílem předkládané práce proto bylo porovnat meze detekce 1-hydroxypyrenu při použití spektrofotometrického, fluo-

rescenčního a elektrochemického detektoru a ověřit použitelnost HPLC-ED ke stanovení 1-hydroxypyrenu v moči.

## Experimentální část

### Chemikálie

Zásobní roztok 1-hydroxypyrenu o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3}$  mol.l<sup>-1</sup> byl připraven rozpuštěním 0,0218 g látky ve 100 ml methanolu. Roztoky nižších koncentrací byly získány přesným ředěním zásobního roztoku methanolem. Všechny roztoky byly uchovávány ve tmě. Jejich stálost byla kontrolována spektrofotometricky. Byl používán acetonitril (210 PR - super purity solvent, Romil Chemicals, Velká Británie) a methanol, kyselina fosforečná, octová kyselina, hydroxid sodný, dihydrogenfosforečnan draselný a chlorid draselný čistoty p.a. (Lachema Brno). K předběžné separaci 1-hydroxypyrenu z vzorků moči byla použita kolonka Sep-Pak C 18 (Tessek, Praha). Pro přípravu vodných roztoků byla použita deionizovaná voda (Milli-Q<sub>plus</sub>, Millipore).

### Přístroje

Spektrofotometrická měření byla prováděna na přístroji Unicam SP-800 (Cambridge, Velká Británie) v křemenných kyvetách měrné tloušťky 1,0 cm.

Pro měření se spektrofotometrickou a elektrochemickou detekcí byl použit vysokoúčinný kapalinový chromatograf složený z čerpadla HPP 5001, dávkovače LCI 30 s 5 µl dávkovací smyčkou, UV detektoru LCD 2040, amperometrického detektoru ADLC 2 s pracovní elektrodou tvořenou úzkým svazkem vláken skelného uhlíku<sup>10</sup>, nasycenou argentochloridovou referenční elektrodou a pomocnou elektrodou tvořenou kovovou výstupní kapilárou, a z liniového zapisovače TZ 4620 (vše Laboratorní přístroje, Praha). Byla použita skleněná kolona plněná Separonem SGX C 18, 7 µm, o délce 15 cm a vnitřním průměru 3,3 mm (Tessek, Praha).

Pro měření s fluorimetrickou detekcí byl použit kapalinový chromatograf Pye Unicam PU 4002 s ovládací, řídicí a vyhodnocovací datastanicí Pye Unicam PU 4850, s programovatelným fluorescenčním detektorem Philips PU 4027 a s UV VIS detektorem s diodovým polem Pye Unicam PU 4021. Nástřik vzorků na kolonu byl prováděn pomocí dávkovacího ventilu Rheodyne 7125 s 5 µl dávkovací smyčkou. Byla použita kovová chromatografická kolona SUPELCOSIL LC-PAH (5 µm), o délce 15 cm s vnitřním

průměrem 4,6 mm (Supelco, Švýcarsko).

Acidita roztoků byla měřena digitálním pH metrem PHM 62 (Radiometer, Dánsko) se skleněnou indikační a nasycenou kalomelovou referenční elektrodou.

Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty.

### Pracovní postupy

Pro zjištění optimálních podmínek stanovení 1-hydroxypyrenu metodou HPLC s elektrochemickou a spektrofotometrickou detekcí byl sledován vliv složení a pH mobilní fáze na eluční časy a výšku píku této látky. Vhodný pracovní potenciál elektrochemického detektoru byl zjištěn z hydrodynamického voltamogramu.

Po tomto optimalizačním kroku byly změřeny kalibrační závislosti a z nich byl určen rozsah linearit a odhadnuta mez detekce pro obě detekční metody.

Mobilní fáze byla připravována smísením odpovídajících objemů methanolu a vodného roztoku KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ( $c = 0,01$  mol.l<sup>-1</sup>) a její pH bylo upraveno na požadovanou hodnotu přidáním kyseliny fosforečné (80 %) nebo roztoku hydroxidu sodného ( $c = 0,2$  mol.l<sup>-1</sup>). Před použitím byla mobilní fáze odvzdušňována v ultrazvukové lázni po dobu 10 minut. Průtoková rychlost mobilní fáze byla 0,3 ml.min<sup>-1</sup>. Mrtvý čas byl určován z nástřiku samotného methanolu. Kvantitativní analýza byla provedena na základě měření výšky píků.

Pro zjištění optimálních podmínek pro stanovení 1-hydroxypyrenu metodou HPLC s fluorescenční detekcí byl sledován vliv složení mobilní fáze na eluční časy a plochu píku látky. Optimální podmínky detekce (výběr vhodných vlnových délek) byly zjištěny proměřením příslušných spekter 1-hydroxypyrenu. Za podmínek použití fluorescenčního detektoru byla proměřena kalibrační závislost sledované látky, určen rozsah linearit a mez detekce.

Mobilní fáze byla připravována smísením odpovídajících dílů acetonitrilu a směsi acetonitril-voda (40+60) ve vysokotlaké směšovací části kapalinového chromatografu. Mobilní fáze v zásobnících byla odvzdušňována kontinuálně, probubláváním proudem helia. Průtoková rychlost mobilní fáze kolonou byla 0,8 ml.min<sup>-1</sup>. Mrtvý čas byl určován z nástřiku samotného acetonitrilu (pokles nulové linie).

Mez detekce byla vždy určována jako koncentrace roztoku látky, která poskytuje pík dvakrát větší než je absolutní hodnota šumu.

Při stanovení 1-hydroxypyrenu v moči neexponovaného pracovníka bylo postupováno následovně: K 10,0 ml moči bylo přidáno vypočtené množství (100, 50 nebo 10 µl)

roztoku 1-hydroxypyrenu v methanolu ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ), takže výsledná koncentrace 1-hydroxypyrenu byla  $10 \cdot 10^{-7}$ ,  $5 \cdot 10^{-7}$  či  $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ . K takto připravenému vzorku moči bylo přidáno 10,0 ml acetátového pufru o pH 5 a vzniklý roztok byl prolit rychlostí asi  $10 \text{ ml.min}^{-1}$  kolonkou SepPak C18, která byla předem promyta 5 ml methanolu a 10 ml deionizované vody. Poté byla kolonka promyta 8 ml deionizované vody a zachycený 1-hydroxypyren byl vymyt 10 ml methanolu. Eluát byl odpařen při  $60^\circ\text{C}$  pod proudem dusíku, odparek byl rozpuštěn v 1,0 ml methanolu a podroben HPLC analýze.

## Výsledky

### Vliv obsahu methanolu či acetonitrilu v mobilní fázi na eluční čas 1-hydroxypyrenu

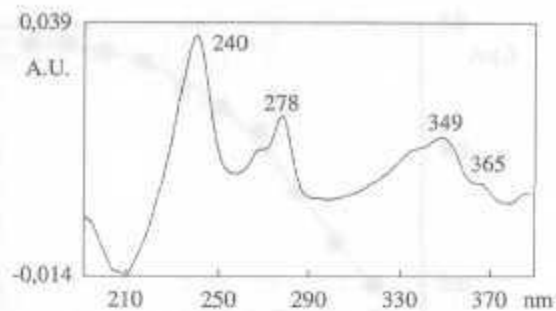
Eluční časy byly měřeny z odezvy UV detektoru při vlnové délce 240 nm, zjištěné jako optimální z absorpční křivky 1-hydroxypyrenu (viz obr. 1). Hodnota pH methanolické mobilní fáze byla upravena na hodnotu přibližně 4,2, pH acetonitrilové mobilní fáze upravováno nebylo. Zjištěné hodnoty retenčních faktorů  $k = (t_R - t_M) / t_M$ , jsou uvedeny v tabulce I, ze které je patrné, že retenční faktor klesá s rostoucím obsahem methanolu či acetonitrilu. Jako optimální byla pro měření se spektrofotometrickým či elektrochemickým detektorem zvolena mobilní fáze obsahující 80 % methanolu, která poskytuje dobré rozlišení při poměrně krátkém elučním čase (kolem 7 min.). Pro práci s fluorimetrickým detektorem byla jako optimální zvolena excitační vlnová délka 346 nm a emisní vlnová délka 392 nm (viz obr. 2). Pro další měření s fluorimetrickým detektorem byla zvolena mobilní fáze obsahující 60 % acetonitrilu.

Tabulka I

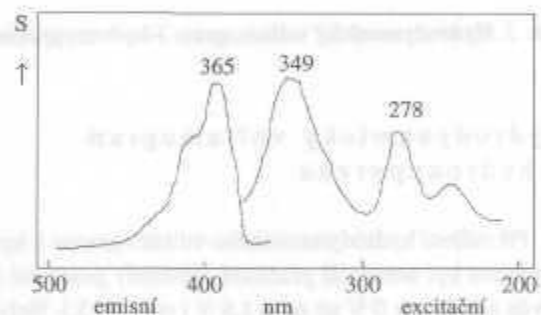
Závislost retenčního faktoru ( $k$ ) 1-hydroxypyrenu na obsahu methanolu či acetonitrilu v mobilní fázi

MeOH [%] <sup>a</sup>	$k$	MeCN [%] <sup>b</sup>	$k$
60	9,94	60	2,42
70	4,00	70	1,41
80	1,54	80	0,95
90	0,64	90	0,72

<sup>a</sup>Methanol - 0,01 M-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 4,2, průtoková rychlost 0,3 ml.min<sup>-1</sup>; <sup>b</sup>acetonitril-voda, průtoková rychlost 0,8 ml.min<sup>-1</sup>



Obr. 1. UV spektrum 1-hydroxypyrenu změřené detektorem s diodovým polem



Obr. 2. Excitační a emisní spektrum 1-hydroxypyrenu

### Vliv pH mobilní fáze

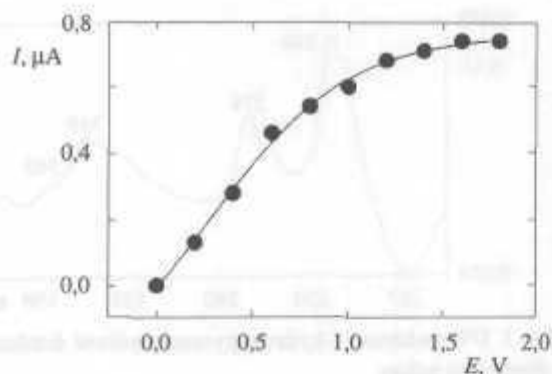
Hodnota pH mobilní fáze obsahující 80 % methanolu byla upravena na 4,2, 5,5 a 7,0 a byl sledován vliv těchto změn na hodnotu retenčního faktoru 1-hydroxypyrenu a na velikost odezvy elektrochemického a spektrofotometrického detektoru. Výsledky měření uvedené v tabulce II ukazují, že retenční faktor příliš nezávisí na pH mobilní fáze. Pro sledování dalších závislostí bylo proto zvoleno pH 7,0, které je nejvýhodnější z hlediska elektrochemické detekce, neboť při něm byla získána nejvyšší odezva elektrochemického detektoru.

Tabulka II

Vliv pH mobilní fáze na retenční faktor ( $k$ ) a na výšku píku 1-hydroxypyrenu při spektrofotometrické (A) a elektrochemické (I) detekci

pH <sup>a</sup>	$k$	$\log k$	A [A.U.]	I [ $\mu\text{A}$ ]
4,2	1,64	0,21	0,158	0,522
5,5	1,51	0,18	0,160	0,468
7,0	1,92	0,28	0,151	0,743

<sup>a</sup>Mobilní fáze methanol - 0,01 M-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 80:20 (v/v); průtoková rychlost 0,3 ml.min<sup>-1</sup>, koncentrace 1-hydroxypyrenu  $2 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$



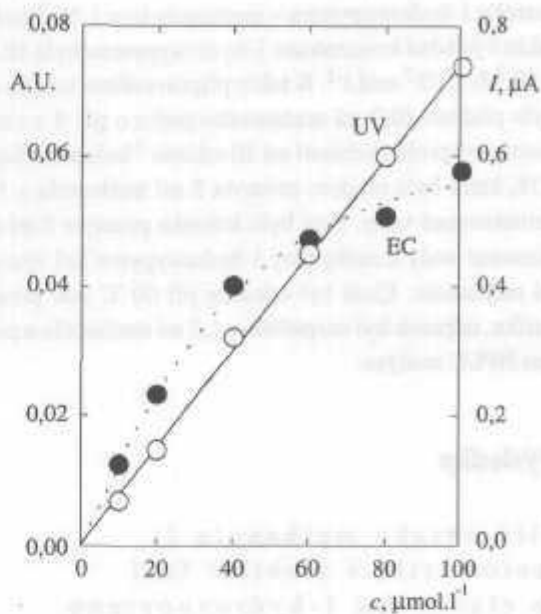
Obr. 3. Hydrodynamický voltamogram 1-hydroxypyrenu

### Hydrodynamický voltamogram 1-hydroxypyrenu

Při měření hydrodynamického voltamogramu 1-hydroxypyrenu byl potenciál pracovní elektrody postupně zvyšován z hodnoty 0 V až na + 1,8 V (viz obr. 3.). Nejvyšší proudová hodnota byla získána při potenciálu + 1,6V. Další zvyšování potenciálu pracovní elektrody již nemělo vliv na výšku píku.

### Koncentrační závislosti

Koncentrační závislost byla proměřena v rozmezí  $1.10^{-3}$  až  $1.10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$  s použitím spektrofotometrické a elektrochemické detekce a v rozmezí  $1.10^{-4}$  až  $1.10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$  použitím fluorescenční detekce. Při spektrofotometrické de-



Obr. 4. Kalibrační křivka pro stanovení 1-hydroxypyrenu vysokoučinnou kapalinovou chromatografií se spektrofotometrickou (UV) a elektrochemickou (EC) detekcí

tekci byly zjištěny lineární koncentrační závislosti v rozmezí  $1.10^{-3}$  až  $1.10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$  s mezí detekce  $1.10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ . U elektrochemické detekce byla dosažená mez detekce o řád nižší ( $1.10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ ), avšak koncentrační závislosti jsou lineární v užším rozmezí ( $1.10^{-5}$  až  $1.10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ ). Při koncentraci 1-hydroxypyrenu vyšší než  $1.10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$  jsou kalibrační závislosti zakřivené (viz obr. 4). Při fluorimet-

Tabulka III

Parametry kalibračních přímků pro stanovení 1-hydroxypyrenu metodou HPLC se spektrofotometrickou, elektrochemickou a fluorimetrickou detekcí

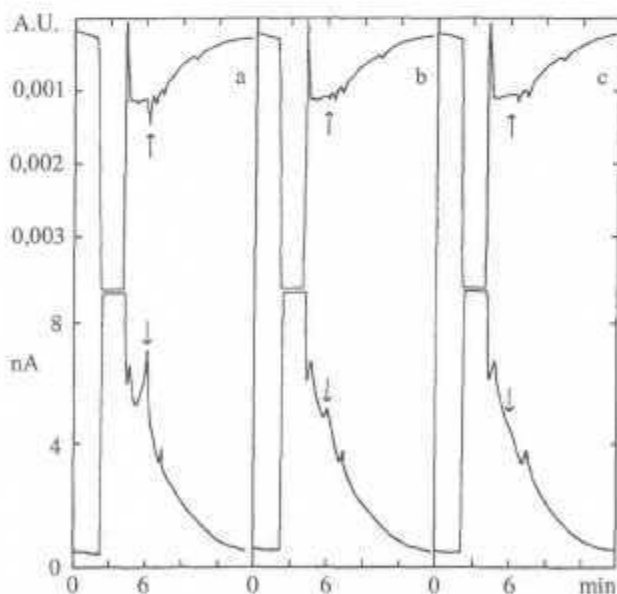
Koncentrace [mmol.l <sup>-1</sup> ]	Spektrofotometrická detekce při 235 nm <sup>a</sup>			Elektrochemická detekce při + 1,6 V <sup>a</sup>			Fluorimetrická detekce <sup>b</sup>		
	směrnice [10 <sup>-4</sup> A.U.μmol <sup>-1</sup> .l]	úsek [10 <sup>-4</sup> A.U.]	korelační koeficient	směrnice [nA.μmol <sup>-1</sup> .l]	úsek [nA]	korelační koeficient	směrnice [μmol <sup>-1</sup> .l]	úsek	korelační koeficient
1000-100	7,10	102,0	0,9994	-	-	-	-	-	-
100-10	7,42	5,2	0,9993	-	-	-	93,16	69,02	0,9977
10-1	7,09	-2,2	0,9979	12,56	-2,17	0,9988	119,62	-1,01	0,9998
1-0,1	8,30	0,3	0,9991	15,94	0,39	0,9990	126,36	0,15	0,9999
0,1-0,01	-	-	-	16,94	0,07	0,9985	72,05	0,03	0,9978
0,01-0,001	-	-	-	-	-	-	83,98	0,06	0,9996

<sup>a</sup> Mobilní fáze methanol - 0,01 M-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 80:20 (v/v), pH 7,0, průtoková rychlost 0,3 ml.min<sup>-1</sup>; <sup>b</sup> mobilní fáze acetonitril-voda, 60:40 (v/v), excitační vlnová délka 346 nm, emisní vlnová délka 392 nm, průtoková rychlost 0,8 ml.min<sup>-1</sup>

rické detekci byly zjištěny lineární koncentrační závislosti v celém sledovaném rozmezí ( $1 \cdot 10^{-4}$  až  $1 \cdot 10^{-9}$  mol.l<sup>-1</sup>), přičemž mez detekce se pohybuje kolem  $5 \cdot 10^{-10}$  mol.l<sup>-1</sup>. Vypočtené parametry koncentračních závislostí jsou uvedeny v tabulce III.

#### Stanovení 1-hydroxypyrenu v moči

Porovnáním výšky píků získaných při spektrofotometrické i elektrochemické detekci s nástřikem standardního roztoku 1-hydroxypyrenu o koncentraci  $5 \cdot 10^6$  mol.l<sup>-1</sup> a roztoku po předběžné separaci a prekoncentraci ze vzorku moči obsahujícího  $5 \cdot 10^{17}$  mol.l<sup>-1</sup> 1-hydroxypyrenu bylo zjištěno, že výtěžnost použitého postupu předběžné separace a prekoncentrace je vyšší než 90 %. Pokud bylo místo 10,0 ml moči vzato do práce 10,0 ml deionizované vody, pohybovaly se meze detekce při předběžné separaci a prekoncentraci zhruba na úrovních dosažených při přímém nástřiku standardních roztoků analytu. Při analýze reálných vzorků moči však došlo k určitému zvýšení meze detekce vzhledem k přítomnosti řady dalších látek. Jak je patrné z obr. 5 je mez elektrochemické detekce i v případě reálných vzorků poněkud nižší (cca  $5 \cdot 10^{18}$  mol.l<sup>-1</sup>) nežli citlivost detekce spektrofotometrické (cca  $1 \cdot 10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup>). Snížení meze detekce při analýze



Obr. 5. HPLC stanovení 1-hydroxypyrenu v moči s UV spektrofotometrickou (UV) a elektrochemickou (EC) detekcí. Koncentrace 1-hydroxypyrenu  $5 \cdot 10^{-7}$  (a),  $1 \cdot 10^{-7}$  (b) a 0 (slepý pokus - c) mol.l<sup>-1</sup>. Šipka označuje polohu píku 1-hydroxypyrenu

vzorků moči ve srovnání s analýzou standardních roztoků v čistém rozpouštědle, související s přítomností řady dalších látek přítomných v dané matici, je do určité míry kompenzováno desetinasobnou prekoncentrací při popsaném postupu.

#### Závěr

Z výše uvedených výsledků je zřejmé, že mez detekce při HPLC stanovení 1-hydroxypyrenu je při použití elektrochemické detekce ( $1 \cdot 10^{18}$  mol.l<sup>-1</sup>) zhruba o jeden řád nižší nežli při použití detekce spektrofotometrické ( $1 \cdot 10^{17}$  mol.l<sup>-1</sup>). Při použití fluorescenční detekce je mez detekce  $5 \cdot 10^{-10}$  mol.l<sup>-1</sup>.

Závěrem lze konstatovat, že laboratoře mající k dispozici HPLC systém s fluorescenční detekcí by jí měly dát přednost před detekcí elektrochemickou a zejména před detekcí spektrofotometrickou, která ze srovnávaných způsobů detekce poskytla nejvyšší mez detekce. Pro řadu případů (např. při monitorování profesionální expozice polycyklickým aromatickým uhlovodíkům při výrobě hliníku či zpracování dehtu) by však citlivost podstatně levnějšího elektrochemického detektoru měla postačovat.

Autoři děkují grantové agentuře Karlovy univerzity za finanční podporu (grant č.41/96).

#### LITERATURA

1. Barek J., Mejstřík V., Švagrová I., Zima J.: Chem. Listy 88, 341(1994).
2. Bjorseth A., Eklund G.: Anal. Chim. Acta 705, 119 (1979).
3. Jongeneelen F. J., Anzion R. B. M., Henderson P. Th.: J. Chromatogr. 413, 227 (1987).
4. Becher G., Bjorseth A.: Cancer Lett. 17, 301 (1983).
5. Clonfero E., Zordan M., Venier P., Paleologo M., Levis A. G., Cottica D., Pozzoli L., Jongeneelen F. J., Bos R. P., Anzion R. B.: Int. Arch. Occup. Environ. Health 61, 363 (1989).
6. Jongeneelen F. J., Bos R. P., Anzion R. B. M., Theuws J. L. G., Henderson P. Th.: Scan. J. Work. Environ. Health 12, 137(1986).
7. Jongeneelen F. J., Anzion R. B. M., Scheepers P. T. K., Sos R. P., Henderson P. Th., Nijenhuis E. H.,

Veenstra S. J., Brouns R. M. E., Winkes A.: Ann. Occup. Hyg. 32, 35 (1988).

8. Tools W. P., Shaw P. B., Lowrz L. K., MacKenzie B. A., Deng J. F., Markel H. L.: Appl. Occup. Environ. Hyg. 5, 303 (1990).
9. Pacáková V., Štulík K.: *Elektroanalytická měření v proudících kapalinách*. SNTL, Praha 1989.
10. Štulík K., Pacáková V., Podolák M.: J. Chromatogr. 298, 225 (1984).

**J. Barek<sup>a</sup>, V. Bencko<sup>b</sup>, J. Cvačka<sup>a</sup>, V. Mejstřík<sup>c</sup>, A. Slámová<sup>b</sup>, I. Švagrová<sup>a</sup> and J. Zima<sup>a</sup>** (<sup>a</sup>Department of Analytical Chemistry, <sup>b</sup>Department of Hygiene and Epi-

*demology, Charles University, Prague, <sup>c</sup>Research Institute for Organic Syntheses, Pardubice*): **Determination of 1-Hydroxypyrene Using High-Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection**

Optimum conditions are described for HPLC determination of 1-hydroxypyrene with electrochemical detection (ED) giving the detection limit -  $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ . This detection limit was compared with that for UV spectrophotometric detection ( $\sim 1 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ ) and fluorimetric detection ( $\sim 5 \cdot 10^{-10} \text{ mol.l}^{-1}$ ). It was demonstrated that HPLC-ED can be used for the determination of 1-hydroxypyrene in urine down to  $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$  and thus for biological monitoring of human exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons.

