

МЕТОДИКА ИЗМЕРЕНИЙ КОНЦЕНТРАЦИЙ МЕТАБОЛИТА БЕНЗО[А]ПИРЕНА В МОЧЕ ЧЕЛОВЕКА ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ В ЦЕЛЯХ БИОМОНИТОРИНГА ЭКСПОЗИЦИИ

Блинков А.А., Семёнов С.Ю., Новиков С.В.

Федеральное государственное унитарное предприятие Научно-технический центр радиационно-химической безопасности и гигиены Федерального медико-биологического агентства (ФГУП НТЦ РХБГ ФМБА России), г. Москва, Российская Федерация

Резюме

Авторами была разработана и апробирована методика измерений (МИ) метаболита бензо[а]пирена (БаП) - 3-гидроксибензо[а]пирена (3-ОН-БаП) в моче. БаП является одним из наиболее канцерогенных полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), поэтому уровень содержания в организме человека его метаболитов обеспечит наиболее точную оценку экспозиции ПАУ работниками предприятий, в том числе работающих в особо опасных условиях труда. Методика основана на гидролизе образцов мочи, экстракции, концентрировании и дериватизации N-метил-N-(триметилсилил)-трифторацетамидом (МСТФА) с последующим анализом пробы с помощью сочетания газовой хроматографии с масс-спектрометрией высокого разрешения (ГХ-МСВР). Для более уверенной идентификации и точного определения следовых уровней 3-ОН-БаП в моче использовался метод внутреннего стандарта и магнитно-секторный масс-спектрометр с двойной фокусировкой. Проведена апробация МИ 3-ОН-БаП на сформированной когорте из десяти добровольцев. В результате определены метрологические характеристики МИ и проведена метрологическая аттестация (МА).

Ключевые слова: 3-гидроксибензо[а]пирен; метаболиты ПАУ; биомониторинг; биомаркёр; газовая хроматомасс-спектрометрия высокого разрешения (ГХ-МСВР); дериватизация МСТФА

Блинков Антон Александрович, blinkov.aa@bk.ru

**METHOD FOR MEASURING BENZO[A]PYRENE METABOLITE CONCENTRATIONS
IN HUMAN URINE BY GC/MS FOR THE PURPOSE OF EXPOSURE BIOMONITORING**

Blinkov A.A., Semenov S.Y., Novikov S.V.

*Federal State Unitary Enterprise Research and Technical Center of Radiation - Chemical Safety
and Hygiene of the Federal Medical - Biological Agency, Moscow, Russian Federation*

Abstracts

The authors developed and tested method for measuring (MM) the metabolite of benzo[a]pyrene (BaP) -3-hydroxybenzo[a]pyrene (3-OH-BaP) in urine. Since benzo[a]pyrene is one of the most carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), the measurement of its metabolites will provide the most accurate assessment of PAH exposure by employees of enterprises, including those working in especially hazardous working conditions, serviced by the Federal Medical and Biological Agency of Russia. The technique is based on hydrolysis of urine samples, extraction, concentration and derivatization with N-methyl-N-(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide (MSTFA) followed by analysis of the sample using a combination of gas chromatography with high resolution mass spectrometry (GC-HRMS). For more confident identification and accurate determination of trace levels of 3-hydroxybenzo[a]pyrene in urine, an internal standard method and a double focusing magnetic sector mass spectrometer were used. The MM of 3-hydroxybenzo[a]pyrene was tested on a formed cohort of ten volunteers. As a result, the metrological characteristics of MM were determined and metrological certification was carried out.

Keywords: 3-hydroxybenzo[a]pyrene; PAH metabolites; biomonitoring; biomarker; high-resolution gas chromatography-mass spectrometry (GC-HRMS); MSTFA derivatization

Введение

В России и мире всё большее внимание уделяется вопросам экологической безопасности. Стремительное развитие современной цивилизации приводит, к сожалению, к попаданию в окружающую среду всё больших объёмов загрязняющих веществ. Такие выбросы, как правило, представляют собой многокомпонентные смеси, состоящие из широкого спектра химических соединений, различающиеся по физико-химическим свойствам. Убиквитарным классом органических веществ, соединения которого повсеместно обнаруживаются в объектах окружающей среды, являются ПАУ. По мере совершенствования методов их обнаружения всё большее число исследований по всему миру посвящаются проблеме ПАУ [1, 2]. Группа ПАУ состоит из нескольких сотен химически родственных соединений, с различными структурами и токсичностью [3]. Молекулы ПАУ по химическому строению представляют собой единую электронную систему, состоящую из двух или более конденсированных ароматических ядер в различных конфигурациях

(линейная, угловая или кластерная структура) [4]. Канцерогенность ПАУ напрямую связана с особенностями строения, так, например, канцерогенная активность возрастает в ряду изомерных ПАУ с К-, Bay-, Fjord-областями. Наиболее изученными ПАУ являются: нафталин, аценафтилен, аценафтен, флуорен, фенантрен, антрацен, флуорантен, пирен, бенз[а]антрацен, хризен, бензо[в]флуорантен, бензо[к]флуорантен, бензо[а]пирен, бензо[ghi]перилен, дибенз[ah]антрацен и индено[123-cd]пирен. ПАУ практически не растворяются в воде, но хорошо растворяются в органических растворителях, жирах и маслах. Соединения, содержащие до четырех колец, относятся к лёгким или низкомолекулярным, а содержащие более четырех колец – к тяжелым или высокомолекулярным ПАУ. Тяжелые ПАУ как правило более стабильны и более токсичны, чем легкие ПАУ [5]. Смеси ПАУ с преимущественным содержанием более высокомолекулярных соединений могут образовываться из природных, а также антропогенных источников [6]. В частности, природными источниками являются: лесные пожары, извержения вулканов и гидротермальные процессы, а антропогенными: сжигание отходов, сжигание угля и древесины, сжигание бензина и дизельного топлива в двигателях внутреннего сгорания [7], процессы промышленного производства, связанные с высокотемпературной переработкой указанного органического сырья, и получаемой продукции, а также локальные аварии на производствах, которые могут оказывать существенное влияние в регионе расположения этих производств. Низкомолекулярные ПАУ содержатся в атмосферном воздухе в паровой фазе, а высокомолекулярные адсорбируются на мелкодисперсных частицах. Антропогенные и природные источники ПАУ в сочетании с явлениями глобального транспорта способствовали распространению этих соединений во всем мире. ПАУ являются повсеместно распространенными, и большая часть биологических объектов Земли подвергается их экспозиции, приводя к различным токсическим эффектам: изменению ДНК клеток, нарушению системных метаболических процессов, и т.п., что в конечном счёте способствует индукции канцерогенеза и гибели организма [8].

Основными путями проникновения ПАУ в организм человека являются: ингаляционный с загрязнённым воздухом, через желудочно-кишечный тракт с загрязнённой пищей и водой, а также трансдермальный при экспозиции через кожу [9]. Как при повседневной жизни, так и при профессиональной работе воздействия могут одновременно включать несколько путей.

ПАУ обнаруживаются почти во всех внутренних органах, особенно в органах, богатых жировой тканью. Эти органы служат хранилищами (депо), из которых углеводороды могут постепенно высвобождаться. При токсикологических исследованиях лабораторные животные, подвергшиеся воздействию высоких доз ПАУ, заболевали раком лёгких при

ингаляции, раком желудка и пищевода при пероральном воздействии и раком кожи при трансдермальной аппликации. При ингаляционном воздействии на организм млекопитающих, ПАУ обладают высокой биодоступностью, которая обусловлена их высокой липофильностью. После проникновения различными путями в организм млекопитающих, а далее в кровь, ПАУ индуцируют экспрессию генов ферментов I фазы метаболизма, таких как цитохромоксидазы P450 (CYP), например, CYP1A1/2 и 1B1, и ферментов II фазы, таких как глутатион-S-трансферазы, UDP-глюкуронилтрансферазы, NADPH-хиноноксиредуктазы (NQO), альдокеторедуктазы (AKR) и эпоксидгидролазы (EH) через зависимые и независимые пути арильного углеводородного рецептора (AhR) [10]. Такой каскад биохимических превращений в организме млекопитающих обусловлен защитной функцией с целью детоксикации, поэтому все ксенобиотики подвергаются конъюгации с глюкуроновой кислотой, сульфатом и глутатионом для быстрой и эффективной экскреции из организма. Вместе с тем биотрансформация такого высокомолекулярного ПАУ, как БаП, из-за особенностей строения и физико-химических свойств, приводит к образованию большего количества метаболитов, которые обладают различным токсическим потенциалом и реакционной способностью, по сравнению с молекулами предшественника. Основными метаболитами БаП, выделяющиеся в мочу в конъюгированной форме, являются моногидроксилированные производные, всего 12 изомеров, однако концентрация 3-ОН-БаП как правило выше остальных. Вместе с тем концентрация 3-ОН-БаП в моче человека относительно низкая, например, у не подвергавшихся значительной экспозиции БаП когорт она может составлять 1-3 нг/дм³. Следует отметить, что уровень 3-ОН-БаП на два порядка меньше, чем у гидроксипириенов, которые также используются в качестве биомаркеров экспозиции ПАУ. Однако информация, полученная при определении уровней метаболитов высококанцерогенного БаП, более значимая, т.к. в большей мере отражает степень опасности экспозиции ПАУ.

Методы пробоподготовки, идентификации и количественного определения БаП и других ПАУ, достаточно разнообразны. При подготовке пробы к анализу, могут использоваться жидкостная или твердофазная экстракция с последующей очисткой и концентрированием [11]. Также могут применяться различные вариации составов растворителей для экстракции целевых соединений из той или иной матрицы, позволяющие наиболее полно извлекать аналиты. Для извлечения целевых соединений применяют различные технические решения, например, твердофазную экстракцию, твердофазную микроэкстракцию, твердофазную наноэкстракцию, твердофазную экстракцию на магнитных наночастицах, ультразвуковую экстракцию, сверхкритическую жидкостную экстракцию и различные их сочетания. После очистки и концентрирования анализируют пробы, в

основном, с помощью методов газовой (ГХ) или жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с различными вариантами детектирования. Так ВЭЖХ часто используется в сочетании с ультрафиолетовым или флуоресцентным детектором, а ГХ с масс-спектрометрическим. Некоторые из этих методов измерения очень чувствительны, они могут идентифицировать и количественно определять БаП в объектах окружающей среды на уровне ppt.

Экологический, санитарно-гигиенический мониторинг среды обитания (объектов окружающей среды, воздуха рабочей зоны, продуктов питания) по химическому фактору для оценки воздействия на человека проводится с использованием разнообразных, основанных на разных принципах, эффективных методах аналитической химии, в том числе разных методах отбора проб, позволяющих решать в той или иной степени задачу определения содержания химических соединений в этих объектах. Однако этот подход имеет принципиальный недостаток, связанный с тем, что определение концентрации загрязнителей проводится в объектах среды обитания, а не в человеке. Следствием этого является то, что оценка степени воздействия загрязнителей на человека может быть менее точна, чем в случае измерения ксенобиотиков и их метаболитов в организме.

Для решения подобных задач в области профессиональной гигиены и гигиены окружающей среды используется метод биомониторинга, который включает анализ соединений и/или их метаболитов в организме: в моче, крови, грудном молоке, волосах и в других биообъектах. Исследования с использованием метода биомониторинга занимает важное место в системе оценки воздействия вредных веществ на население и на работников предприятий, особенно работающих в особо опасных условиях труда. Биомониторинг является перспективным инструментом для сбора информации об экспозиции ПАУ организмом вне зависимости от путей проникновения загрязнителя [12]. Большое значение имеет биомониторинг экспозиции организмом человека высокоопасных соединений ПАУ, таких как БаП. Очевидно, что аналитическое определение следовых количеств 3-ОН-БаП, кроме того, усложняется большим фоновым содержанием сложных по химическому строению органических веществ постоянно присутствующих в матрице: белки, липиды, органические кислоты, стероиды и т.д. Поэтому идентификация и определение 3-ОН-БаП задача довольно трудная. Используемый аналитический метод должен быть высокочувствительным и избирательным, что обеспечит однозначную идентификацию метаболита БаП и измерение его содержания. Важнейшим элементом МИ является использование внутренних стандартов, в том числе изотопномеченных.

Таким образом, можно заключить, что биомониторинг БаП является важным инструментом оценки экспозиции этим высокоопасным соединением. Обнаружение превышения референсных уровней метаболитов БаП, например, у рабочих, занятых на

производствах с особо опасными условиями труда, дает объективное основание для поиска источника его эмиссии. Для этого необходимо применять методы измерения БаП в конкретных объектах производственной и окружающей среды, в продуктах питания и т.п.

В настоящее время в России методическое обеспечение биомониторинга экспозиции высокотоксичными соединениями класса ПАУ развито недостаточно, это обстоятельство указывает на необходимость развития данной области.

Цель исследования

Разработать высокочувствительную и избирательную МИ массовых концентраций моногидроксилированного метаболита бензо[а]пирена (3-гидроксибензо[а]пирена) в моче методом ГХ-МСВР и апробировать её работоспособность в реальных условиях на когорте добровольцев.

Материалы и методы

В работе использовались стандартные растворы изотопномеченого 3-гидроксибензо[а]пирена-D₁₁ и нативного 3-гидроксибензо[а]пирена с химической чистотой 95 %, производства Toronto Research Chemicals (TRC). Для пробоподготовки использовались: ацетон «ос.ч.», толуол «ос.ч.», метиленхлорид «х.ч.», ацетонитрил «ос.ч.», ледяная уксусная кислота «х.ч.», тридекан «х.ч.», азид натрия «х.ч.», ацетат натрия «ч.д.а.», сульфат натрия «х.ч.» (Мосреактив), метанол «ВЭЖХ чистоты» (Merck), деионизованная вода (оборудование Millipore), пиридин «ВЭЖХ чистоты» (Sigma-Aldrich), силикагель модифицированный C18 (Biotage), гелий, азот и аргон марок 5.5 (ООО «НИИ КМ»), N-Метил-N-(триметилсилил)-трифторацетамид (МСТФА) «для ГХ дериватизации» (Sigma-Aldrich), раствор β-глюкуронидаза/арилсульфатаза, тип Н-2 (100000 ед.Фишмана/мл и 80000 ед.Роя/мл) (Sigma-Aldrich).

При исследовании и разработке применялся инструментальный метод ГХ-МСВР. Система состояла из газового хроматографа фирмы Agilent Technologies (модель 7890В) и магнитно-секторного масс-спектрометра с двойной фокусировкой AutoSpec Premier фирмы Waters, позволяющим регистрировать ионы с заданными точными массами в диапазоне 10-2000 а.е.м. при ионизации пробы в режиме электронного удара, с масс-спектрометрическим разрешением не менее 10000 (на 10 % высоте пика), оснащенным компьютерной системой обработки данных MassLynx. В данном исследовании регистрацию осуществляли как в сканирующем режиме (SCAN) от 50-500 а.е.м., так и в режиме регистрации выбранных ионов (SIR). Для хроматографического разделения была использована неполярная капиллярная колонка SGE BPX5 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм, газ-носитель гелий, скорость потока 1 см³/мин. Режим работы инжектора - без деления потока (splitless). Температура

инжектора 280 °С. Температурная программа колонки: начальная температура в 90 °С выдерживалась 1 мин, затем со скоростью 8 °С/мин она нагревалась до 300 °С и выдерживалась в течении 5 мин. Параметры магнитно-секторного масс-спектрометра с двойной фокусировкой: температура интерфейса 300 °С, температура ионного источника 250 °С, энергия ионизирующих электронов 70 эВ, ток эмиссии 0,3 мА, инжестируемый объём пробы 1 мм³. Идентификацию метаболита бензо[а]пирена осуществляли по хроматографическому времени удерживания, наличию характеристических ионов в масс-спектре (таблица 1) хроматографически разрешённого метаболита и внутреннего стандарта-имитатора (ВСИ) на регистрируемых ионных масс-хроматограммах.

Таблица 1.

Характеристические ионы аналита и ВСИ

Анализируемые соединения	Масса, регистрируемая в режиме высокого разрешения, а.е.м.
3-Гидроксибензо[а]пирен	340,1283
3-Гидроксибензо[а]пирен-D11 (ВСИ)	351,1968

Для повышения чувствительности масс-спектрометрического анализа использовали режим SIR. Он был оптимизирован по различным параметрам с целью получения наиболее интенсивного отклика масс-спектрометрической системы при регистрации характеристических ионов аналита. Далее уже оптимизированный метод ГХ-МСВР использовался для последующего анализа градуировочных растворов и подготовленных проб мочи.

Подготовка проб к инструментальному анализу. Отбор проб мочи производился донором непосредственно в специальный стерильный контейнер в объёме не менее 100 см³. Далее контейнер с пробой маркировался и замораживался при минус 18 °С, а затем доставлялся в лабораторию для анализа. В случае длительного хранения в пробу добавлялся консервант азид натрия в концентрации (0,05 %) и проба замораживалась при минус 70 °С. Перед исследованием образец размораживали при комнатной температуре и делили на аликвоты по 50 см³. Аликвоту образца мочи 50 см³ помещали в колбу на 250 см³ с притёртой пробкой, вносили 10 мм³ раствора ВСИ и 50 см³ 1 М раствор ацетатного буфера с рН 5,5, содержащий глюкуронидазу/арилсульфатазу (1 мкл энзима/см³ буфера). Колбу закрывали пробкой и выдерживали в термостате (37°С) при перемешивании со скоростью 120 об/мин, в течение 20 – 24 часов. Образец после гидролиза подвергали очистке с использованием колоночной хроматографии. Колонку кондиционировали, а затем наносили гидролизат и несколько раз промывали смесью растворителей с повышением элюирующей силы. Целевую фракцию элюировали с колонки со скоростью 1 капля в секунду. Фракцию упаривали досуха

на роторном испарителе при температуре бани не выше 25 °С, затем сухой остаток перерастворяли в 10 см³ 1 М ацетатного буфера pH 5,5. После этого очищенный гидролизат подвергали твёрдофазной экстракции (ТФЭ).

Извлечение из очищенного гидролизата аналита, лишённого глюкуронидных и сульфатных групп, проводили методом ТФЭ с использованием специального коллектора на 20 позиций типа VacMaster фирмы Biotage. Применялась концентрирующая ТФЭ на C18 модифицированном силикагеле (картридж 500 мг, 6 мл), условия которой были тщательно оптимизированы для извлечения аналита. Картридж ТФЭ кондиционировали и уравнивали метанолом и 1 М ацетатным буфером pH 5,5. После наносили перерастворённый очищенный гидролизат со скоростью не более 1 капли в секунду для недопущения проскока. Затем картридж промывали раствором метанола в 1 М ацетатном буфере pH 5,5, сушили азотом, а далее элюировали целевое соединение. Экстракт упаривали на роторном испарителе при температуре бани не выше 25 °С до объёма 1 – 2 см³. Затем упаренный экстракт переносили в мини виалу с коническим дном, добавляли 10 мм³ тридекана и упаривали в токе азота.

К содержимому мини виалы добавляли 10 мм³ N-метил-N-(триметилсилил)-трифторацетамида (МСТФА) и 5 мм³ пиридина в атмосфере аргона и быстро завинчивали крышку. Затем помещали виалу в термостат и выдерживали при температуре 60 °С в течение 30 мин. После охлаждения аналитическую пробу анализировали методом ГХ-МСВР при выше изложенных условиях. При необходимости повторного инструментального анализа аналитические пробы хранили не более 1 недели в холодильной камере при температуре плюс 4 °С.

Результаты

При разработке МИ проведено исследование хроматографических и масс-спектрометрических характеристик аналита с использованием соответствующего стандарта с целью определения оптимальных параметров для высокочувствительного и селективного измерения 3-ОН-БаП в моче человека, обеспечивающих надёжность идентификации и точность определения. Для этого готовили градуировочную смесь, содержащую 3-ОН-БаП и его меченый дейтерием аналог (3-ОН-БаП-D₁₁) в концентрациях 100; 50; 25; 5; 1 нг/дм³. Приготовленную смесь подвергали дериватизации МСТФА в пиридине и атмосфере аргона и далее инструментальному анализу методом ГХ-МСВР. Экспериментально полученная градуировочная зависимость описывается линейной функцией, представленной на рисунке 1, при коэффициенте корреляции для каждого компонента не менее 99 %.

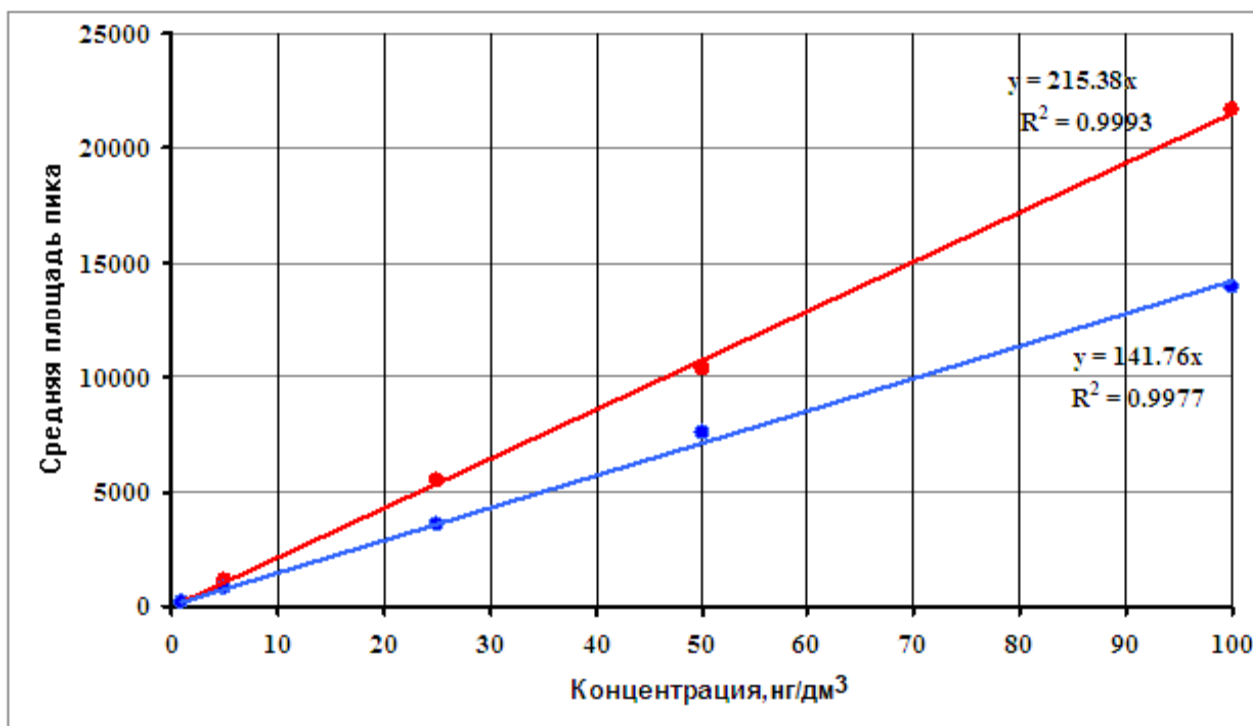


Рисунок 1. Градуировочная зависимость 3-ОН-БаП (верхняя прямая) и его изотопномеченного аналога 3-ОН-БаП-D₁₁ (нижняя прямая)

Относительные стандартные отклонения времени удерживания и площади пиков находились в допустимых пределах <1 % и <10 % соответственно. Предел определения 3-ОН-БаП в градуировочных растворах составил 1 нг/дм³. Диапазон измерения 3-ОН-БаП составил 1-100 нг/дм³.

Приемлемость МИ и надежность получаемых результатов зависит не только от метрологических характеристик, полученных путем анализа градуировочных растворов. Важную роль играет валидация МИ, целью которой является доказательство ее надежности при определении концентрации аналита в биологической матрице. Валидация данной МИ проведена в соответствии с [13]. Учитывая, что БаП - убиквитарное соединение, его метаболит практически всегда присутствует в моче человека. Поэтому селективность определяли только для внутреннего стандарта. Отклик сигнала мешающих компонентов составил менее 3 % сигнала нижнего предела количественного определения, что вполне соответствовало требованиям [13]. В большой степени это связано с использованием высокоселективного инструментального метода – ГХ-МСВР.

Матричный эффект был исследован с использованием внутреннего стандарта на 6 образцах мочи различных доноров. Отношения площади пика 3-ОН-БаП-D₁₁ в присутствии матрицы к площади пика в чистом растворе аналита составил менее 15 %. Измерения были сделаны при двух концентрациях внутреннего стандарта - 1 нг/дм³ и 100 нг/дм³. Эффект

переноса из предыдущей пробы отсутствовал. Воспроизводимость градуировочной кривой составила менее 8,5 %, показатель точности (границы относительной погрешности при вероятности $P=0,95$) составил 40 %, а показатель воспроизводимости (прецизионность) МИ 9,5 %.

Были проведены исследования стабильности аналита и ВСИ в биологической матрице и рабочих растворах при хранении. Подготовленные пробы рабочих растворов и мочи сначала анализировали на ГХ-МСВР, а затем герметизировали и помещали в холодильную камеру при 4 °С. Далее повторно проводили инструментальный анализ тех же самых проб через равные промежутки времени (2 суток) и оценивали изменения высоты, площади и формы пика аналита и его внутреннего стандарта. На основании полученных данных было установлено, что сигналы аналита и его ВСИ были стабильны в рабочих растворах и пробах мочи при хранении в холодильной камере при плюс 4 °С в течении 1 недели (расхождения значений находились в пределах ± 15 %).

Проведена экспертная оценка и метрологическая аттестация разработанной МИ в компетентной и уполномоченной организации, получено свидетельство № RA.RU.311955.2018.

С целью оценки работоспособности разработанной МИ по определению количественного содержания 3-ОН-БаП в моче в реальных условиях проводили её апробацию на когорте испытуемых, которая была сформирована из десяти добровольцев с потенциально минимальным уровнем экспозиции БаП.

Отбор испытуемых для включения в когорту проводили по результатам анкетирования, с учётом: пола, возраста, роста, веса, района проживания, характера работы, продолжительности рабочей недели в часах, отношения к курению табака (включая информацию о пассивном курении), описания рациона питания с учетом потребления в пищу продуктов, приготовленных потенциально опасным способом.

Результаты измерений содержания 3-ОН-БаП в моче десяти добровольцев, не подвергавшихся значительной экспозиции ПАУ, по разработанной МИ представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Концентрации 3-гидроксибензо[а]пирена в образцах мочи добровольцев

№ субъекта	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Массовая концентрация 3-ОН-БаП, нг/дм ³	5,3	2,6	1,5	12,1	7,3	9,5	2,1	6,4	4,4	2,3

Обсуждение

Результаты апробации разработанной МИ, представленные в таблице 2, показали, в пробах мочи добровольцев с потенциально минимальным уровнем экспозиции БаП определено содержание 3-ОН-БаП в диапазоне 1,5 – 12,1 нг/дм³, что ещё раз подтверждает повсеместное присутствие ПАУ в объектах окружающей среды. Даже при измеренной концентрации 3-ОН-БаП в моче 1,5 нг/дм³ соотношение сигнал / шум хроматографического пика по выбранному иону было не менее чем 10, как это показано на рисунке 2.

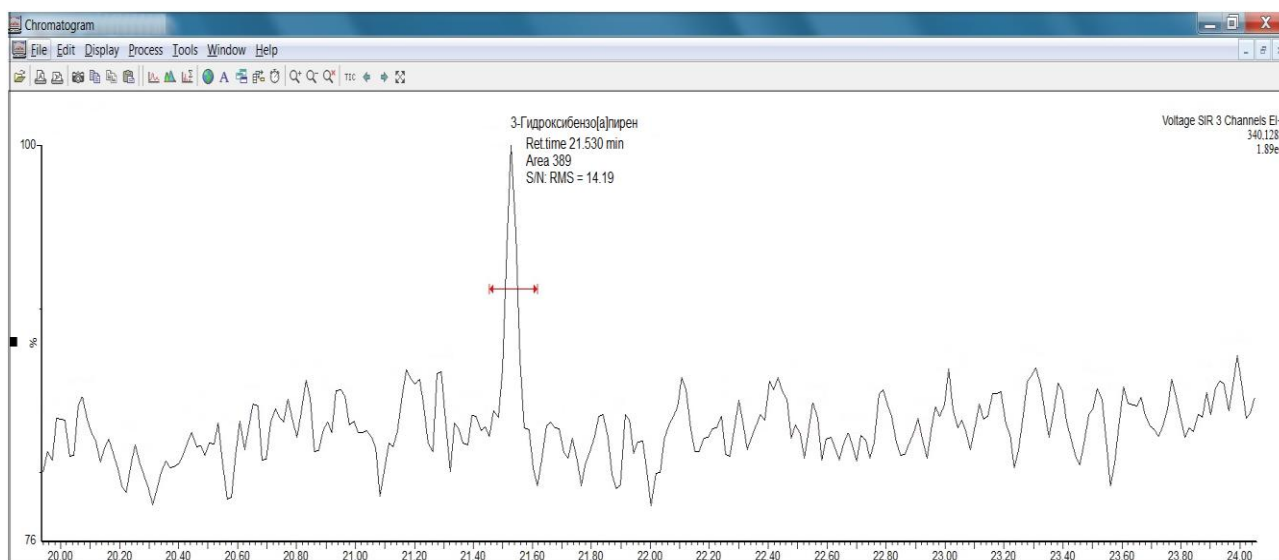


Рисунок 2. Хроматограмма аналитической пробы образца мочи добровольца с уровнем 3-ОН-БаП 1,5 нг/дм³

Полученные результаты измерений 3-ОН-БаП в моче добровольцев вполне коррелируют с данными, описанными в литературных источниках: 1,1-19,2 нг/дм³ [14, 15].

Заключение

Разработана высокочувствительная селективная методика измерения массовой концентрации моногидроксилированного метаболита бензо[а]пирена - 3-гидроксибензо[а]пирена, в моче методом хроматомасс-спектрометрии в диапазоне от 1 до 100 нг/дм³.

Разработанная метрологически аттестованная и апробированная методика измерения может быть использована для биомониторинга экспозиции высокоопасным ПАУ - БаП, населения и работников предприятий, в том числе работающих в особо опасных условиях труда.

Библиография

1. Seo S.H., Jung K.S., Park M.K., et al. Indoor air pollution of polycyclic aromatic hydrocarbons emitted by computers. *Building and Environment*. 2022; 218.
2. Nazar W., Niedozytko M., Tchounwou P. Air Pollution in Poland: A 2022 Narrative Review with Focus on Respiratory Diseases. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19(2): 895; doi: 10.3390/ijerph19020895.
3. Cerniglia C.E. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Bioderedation*. 1992; Vol.3: S 351–368.
4. Blumer M., Blumer W., Reich T. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils of a mountain valley: Correlation with highway traffic and cancer incidence. *Environmental Science and Technology*. 1977; N.11, S.1082–1084.
5. Li P.H., Wang Y., Li Y.H., et al. Gas-particle partitioning and precipitation scavenging of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the free troposphere in southern China. *Atmospheric Environment*. 2016; N128: S. 165–174.
6. Ren C., Wu Y., Zhang S., et al. PAHs in sediment cores at main river estuaries of Chaohu Lake: implication for the change of local anthropogenic activities. *Environmental science and pollution research international*. 2015; V.22, S.1687–1696.
7. Albuquerque M., Coutinho M., Borrego C. Long-term monitoring and seasonal analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) measured over a decade in the ambient air of Porto, Portugal. *Science of The Total Environmen*. 2016; N.543(Part A), S.439–448.
8. Stading R., Gastelum G., Chu C., et al. Molecular Mechanisms of Pulmonary Carcinogenesis by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): Implications for Human Lung Cancer. *Semin Cancer Biol*. 2021; N.76, S. 3–16.
9. Ravindra K., Sokhi R., Grieken R. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: sourceattribution, emission factors and regulation. *Atmos Environ*. 2015; N. 42, S.2895–921.

10. Shimada T., Fujii-Kuriyama Y. Metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons to carcinogens by cytochromes P450 1A1 and 1B1. *Cancer Sci.* 2004; S1-6.
11. Szulejko J.E., Kim K.H., Brown R.J., Bae M.S. Review of progress in solvent-extraction techniques for the determination of polyaromatic hydrocarbons as airborne pollutants. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 2014; N. 61, S. 40–48.
12. Talaska G., Thoroman J., Schuman B., Kafferlein H.U. Biomarkers of polycyclic aromatic hydrocarbon exposure in European coke oven workers. *Toxicology Letters.* 2014; N. 231, S. 213–216.
13. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т.1, с.201.
14. Luo K., Gao Q., Hu J. Derivatization method for sensitive determination of 3-hydroxybenzo[a]pyrene in human urine by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.* 2015; S. 51–55.
15. Ariese F., Verkaik M., Hoornweg G.P., et al. Trace Analysis of 3-Hydroxybenzo[a]pyrene in Urine for the Biomonitoring of Human Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Journal of Analytical Toxicology.* 1994; V.18.