

**Методические особенности определения  
химических  
соединений и элементов в биологических средах и  
рекомендации для практического использования в  
рамках социально-гигиенического мониторинга**

**Заведующий отделом химико-аналитических  
методов исследования,  
доктор биологических наук  
Уланова Татьяна Сергеевна  
[ulanova@fcrisk.ru](mailto:ulanova@fcrisk.ru)**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР МЕДИКО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ  
ТЕХНОЛОГИЙ УПРАВЛЕНИЯ РИСКАМИ ЗДОРОВЬЮ НАСЕЛЕНИЯ»**

**Биомониторинг** – является одним из новых направлений социально-гигиенического мониторинга задачей которого является установление причинно-следственных связей в системе «окружающая среда – здоровье населения» и доказательством результатов этого воздействия.

**Именно прямые методы определения токсичных соединений и их метаболитов в биологических средах человека являются неоспоримым доказательством неблагоприятного воздействия на здоровье.**



**Разработано и утверждено** Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным врачом Российской Федерации **40 методических указаний по определению 62 химических соединений и элементов в биосредах**

**МУК 4.1.3040–12** «*Определение массовой концентрации бенз(а)пирена в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии*» основан на экстракции бенз(а)пирена из биопробы ацетонитрилом в присутствии высаливателей, очистке экстракта на сорбенте С18 и анализе очищенного экстракта на жидкостном хроматографе с использованием флуориметрического детектора. Диапазон измерений массовой концентрации от 0,02 до 2 включ. мг/дм<sup>3</sup>.

**МУК 4.1.3159–14** «*Методика измерений массовой концентрации акрилонитрила в крови методом капиллярной газовой хроматографии*» основан на извлечении и концентрировании акрилонитрила из проб крови методом анализа равновесной паровой фазы путем нагревания объекта. Определению не мешают углеводороды, спирты. Диапазон измерений массовой концентрации акролеина 0,007-1,0 мг/дм<sup>3</sup>

**МУК 4.1.3041-12** «*Определение массовой концентрации 3,4-бенз(а)пирена в пробах мочи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии*» основан на концентрировании 3,4-бенз(а)пирена из мочи методом твердофазной экстракции на полимерном сорбенте Oasis HLB, экстракции с сорбента метиленхлоридом и анализе экстракта на жидкостном хроматографе с использованием флуориметрического детектора. Диапазон измерений от 0,01 до 4 включ. мкг/дм<sup>3</sup>

**МУК 4.1. 3160 – 14.** *Измерение массовых концентраций фталатов (диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата) в молоке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.*

## *Газовый хроматограф Кристалл-5000*



- Термо-ионный детектор (азотсодержащие соединения)
- Пламенно-ионизационный детектор (органические соединения: фенол, углеводороды)
- Детектор электроноого захвата (хлорорганические соединения)

## *Жидкостной хроматограф Agilent 1200*

- Ультрафиолетовый детектор (альдегиды, фталаты)
- Флуориметрический детектор (акролеин, бенз(а)пирен, стирол)



## *Газовый хроматограф Agilent 7890A с масс-селективным детектором 5975C*



**Капиллярная колонка HP-5MS  
30m\*0.250mm\*0.25µm. Ионизация методом  
электронного удара. База данных  
масс-спектров NIST 08.L (700 000масс-спектров)**

## *Жидкостный хроматограф Agilent 1200 с масс-спектрометрическим детектором*

**Ионизация электростатическим распылением.  
Режимы сканирования масс-спектров  
родительских ионов, дочерних ионов, выбранных  
MRM-переходов. База данных масс-спектров  
пестицидов.**



*Масс-спектрометр с индуктивно – связанной аргоновой плазмой (Agilent 7500cx)*



**Возможность одновременного определения 10-30 химических элементов из одной пробы.  
Предел обнаружения  $10^{-9}$ - $10^{-12}$  г/л.**

**Реакционный режим работы прибора с октопольной  
реакционно/столкновительной ячейкой. Система интерфейса с платиновыми конусами.**

# Руководство по контролю содержания химических соединений и элементов в биологических средах

*Разработка методик связана с отработкой специальных приемов пробоподготовки:*

- Экстракция органическим растворителем
- Дериватизация – получение производных целевых компонентов с помощью селективных реакций на отдельные функциональные группы
- Твердофазная экстракция
- Статический и динамический анализ равновесной паровой фазы (АРПФ)



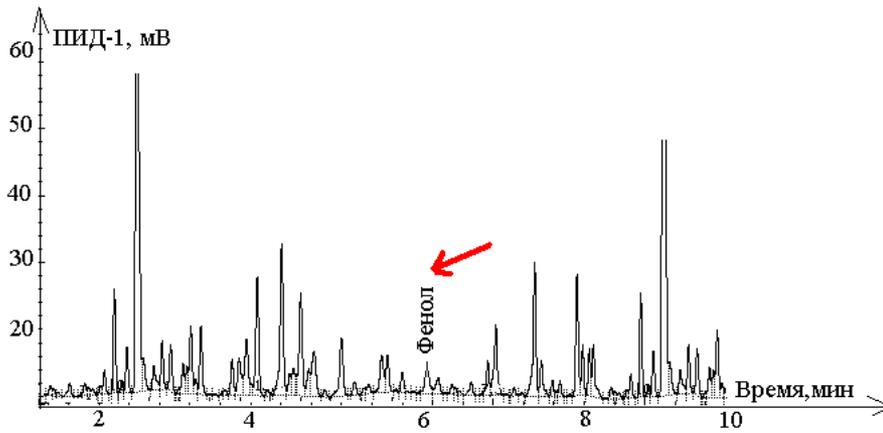
РУКОВОДСТВО

Г.Г. Онищенко, Н.В. Зайцева, Т.С. Уланова

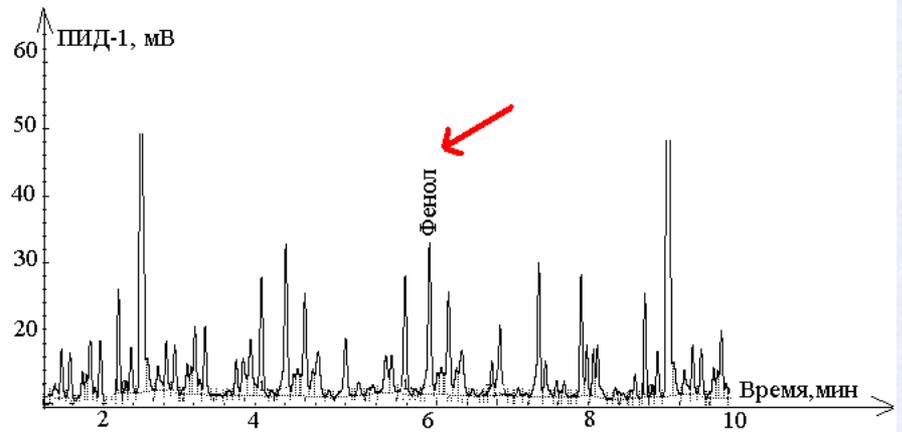
КОНТРОЛЬ  
СОДЕРЖАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ  
СОЕДИНЕНИЙ И ЭЛЕМЕНТОВ  
В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ



**МУК 4.1.2108-06: Определение массовой концентрации фенола в биосредах (кровь) газохроматографическим методом**



(А) Содержание фенола в крови детей на территории сравнения  $C=0,006 \text{ мг/м}^3$

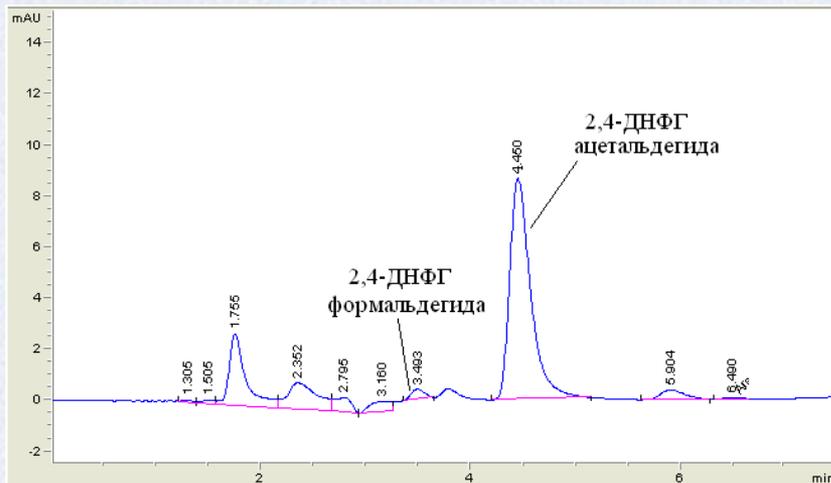


(В) Содержание фенола в крови детей на территории наблюдения  $C=0,013 \text{ мг/м}^3$

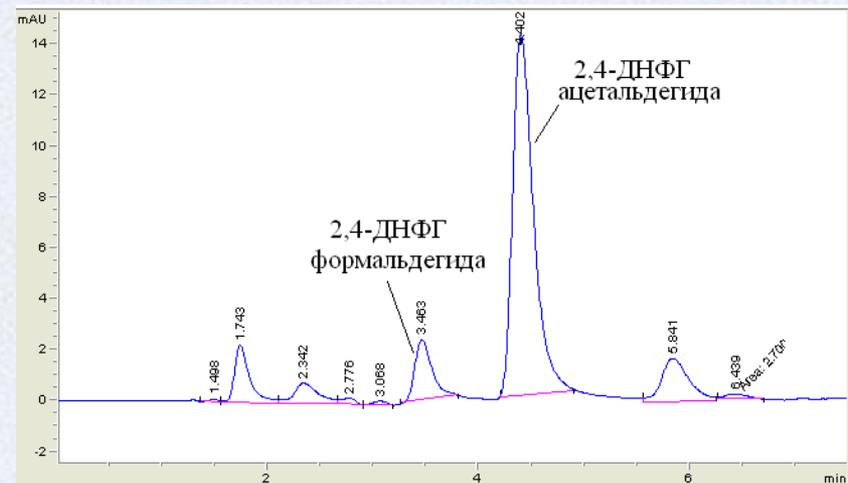
Методика основана на метилировании, переводе в летучие неполярные производные, экстракции органическим растворителем и определении дериватов методом капиллярной газовой хроматографии с детектором ионизации пламени. Методика обеспечивает выполнение измерений массовой концентрации фенола в крови в диапазоне концентраций от  $0,04$  до  $0,50 \text{ мг/дм}^3$  с погрешностью  $24,8\%$ .

**МУК 4.1.2111-06 Определение массовой концентрации формальдегида, ацетальдегида, пропионового альдегида, масляного альдегида и ацетона в пробах крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии**

**Хроматограммы анализа предельных альдегидов в крови детей:**



**Территория сравнения, концентрация формальдегида 0,001 мг/дм<sup>3</sup>, ацетальдегида 0,072 мг/дм<sup>3</sup>**



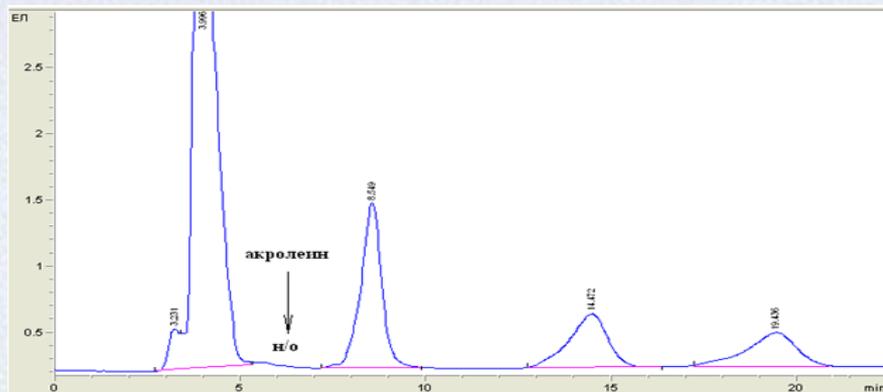
**Территория наблюдения, концентрация формальдегида 0,012 мг/дм<sup>3</sup>, ацетальдегида 0,116 мг/дм<sup>3</sup>**

Методика основана на предварительном переводе альдегидов в производные 2,4-динитрофенилгидразоны, концентрировании продуктов дериватизации из биологического материала экстракцией гексаном и анализе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием.

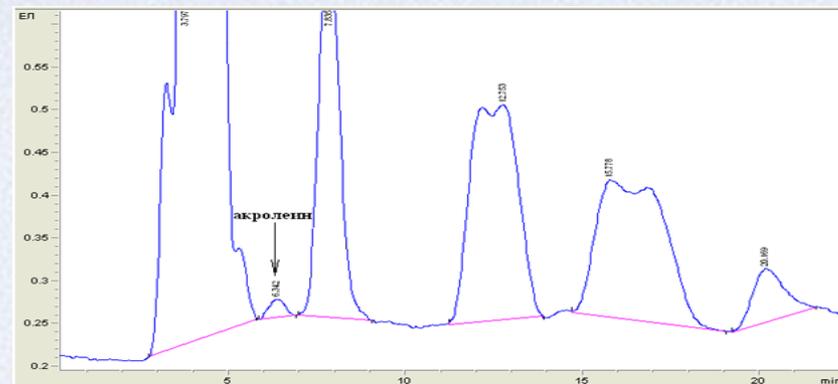
Альдегиды определяются в диапазоне от 0,001 до 2 мг/дм<sup>3</sup>, погрешность до 27 %.

# МУК 4.1.3158-14 Определение массовой концентрации акролеина в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

## Хроматограммы анализа акролеина в крови детей в форме производного

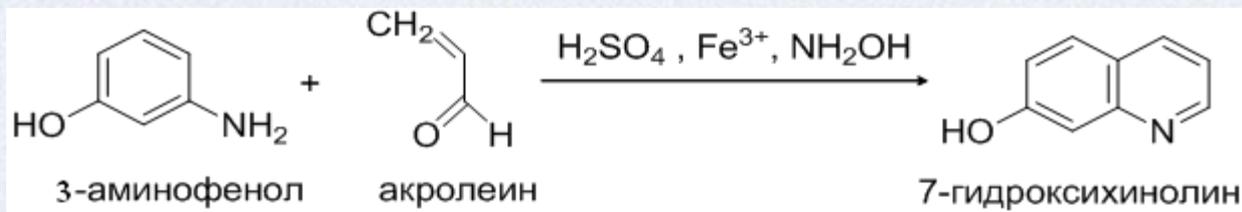


Территория сравнения, акролеин в крови не обнаружен



Территория наблюдения концентрация акролеина 0,14 мг/дм<sup>3</sup>

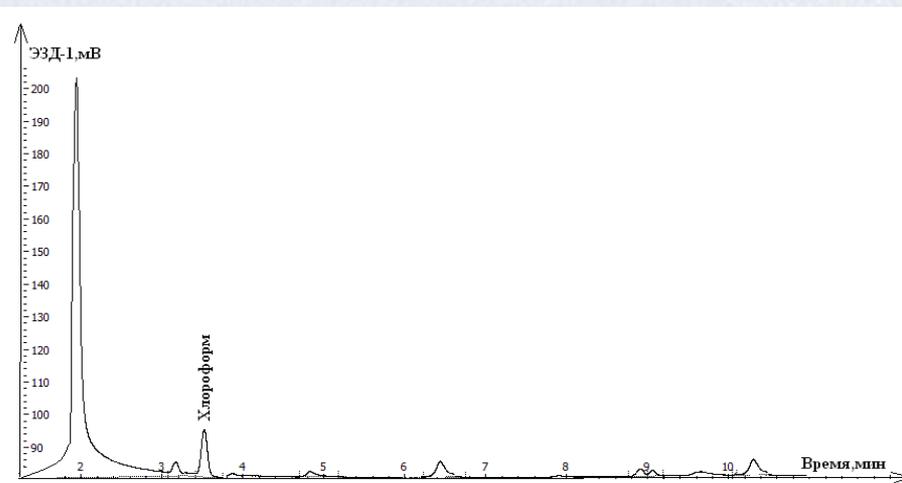
Методика основана на взаимодействии акролеина с 3-аминофенолом с образованием производного 7-гидроксихинолина:



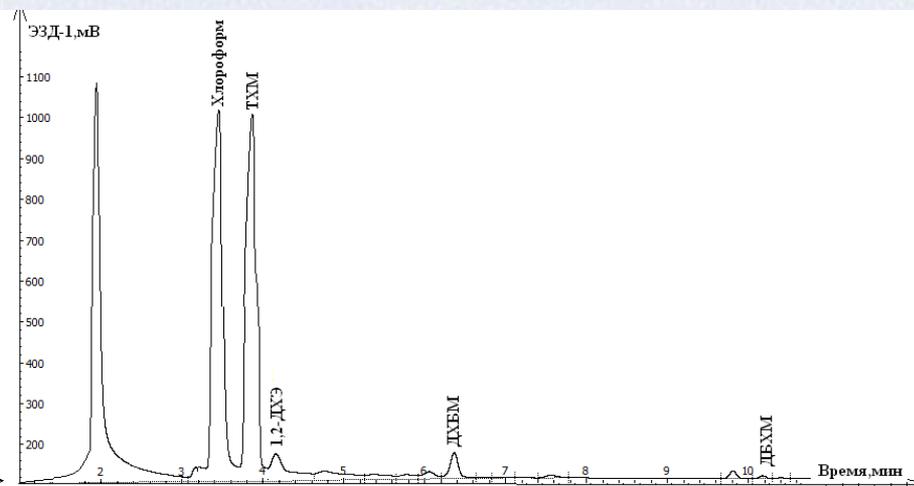
Анализ деривата проводится методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием *флуориметрического детектора*.

Акролеин в крови определяется в диапазоне 0,1-5 мг/дм<sup>3</sup>, погрешность до 31 %.

**МУК 4.1.2115-06 Определение массовой концентрации хлороформа, 1,2-дихлорэтана, тетрахлорметана в биосредах (кровь) методом газохроматографического анализа равновесного пара.**



**(А) Содержание ХОС в крови детей ДОО территории сравнения:**  
С хлороформа = 0,0002 мкг/мл



**(В) Содержание ХОС в крови детей ДОО территории наблюдения:** С хлороформа = 0,12 мкг/мл,  
Стхм = 0,017 мкг/мл, С 1,2-дхэ = 0,028 мкг/мл,  
С дхбм = 0,0004 мкг/мл, С дххм = 0,0001 мкг/мл

Методика основана на предварительном выделении алифатических хлорированных углеводородов из биологического материала (кровь) путем нагревания объекта и последующего газохроматографического анализа равновесной паровой фазы. ХОС определяются в диапазоне от 0,0006 до 1,125 мг/дм<sup>3</sup>, погрешность до 20,7%.

## **МУК 4.1.3040-12 Определение массовой концентрации бенз(а)пирена в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии**

Метод измерения массовой концентрации бенз(а)пирена в крови основан на экстракции бенз(а)пирена из биопробы по методу QuEChERS и анализе очищенного экстракта на жидкостном хроматографе с использованием флуориметрического детектора.

Диапазон измеряемых концентраций 0,00002 до 0,002 мг/дм<sup>3</sup> с погрешностью не более 24 %.



Наборы QuEChERS для диффузионной твердофазной экстракции

### **Процедура QuEChERS**

**1 мл пробы крови помещают в центрифужную пробирку объемом 15 мл**



**добавляют 1 мл ацетонитрила, встряхивают в течение 1 минуты**



**добавляют набор для экстракции, закрывают и интенсивно встряхивают в течение 1 минуты**



**центрифугируют 10 минут со скоростью 2 000 об в минуту**



**0,8 мл надосадочного слоя переносят в пробирку объемом 15 мл, содержащую набор для очистки, встряхивают 1 минуту**



**центрифугируют 10 минут со скоростью 2 000 об в минуту**



**отбирают надосадочный слой, фильтруют через мембранный фильтр**



**подвергают ВЭЖХ-ФЛД анализу**

## **МУК 4.1.3041-12 Определение массовой концентрации бенз(а)пирена в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии**

Метод измерения массовой концентрации бенз(а)пирена в моче основан на концентрировании бенз(а)пирена из мочи методом твердофазной экстракции (ТФЭ) на полимерном сорбенте Oasis HLB и анализе экстракта на жидкостном хроматографе с использованием флуориметрического детектора.

Диапазон измеряемых концентраций 0,00001 до 0,001 мг/дм<sup>3</sup> с погрешностью не более 20 %.



Устройство для твердофазной экстракции (манифолд + вакуумный насос)

Процедура твердофазной экстракции

Пропускают через картридж Oasis HLB  
1 мл раствора метиленхлорида  
в ацетонитриле (1:10)

↓

Пропускают через картридж Oasis HLB  
1 мл дистиллированной воды

↓

Наносят на картридж 1 мл пробы мочи

↓

Промывают картридж с нанесенной пробой  
1 мл дистиллированной воды и  
0,2 мл 50-% раствора ацетонитрила в воде

↓

Высушивают картридж в токе воздуха

↓

Пропускают через картридж Oasis HLB  
1 мл метиленхлорида

↓

Экстракт высушивают и перерастворяют  
в 1 мл ацетонитрила

↓

пробу фильтруют через мембранный фильтр

↓

подвергают ВЭЖХ-ФЛД анализу

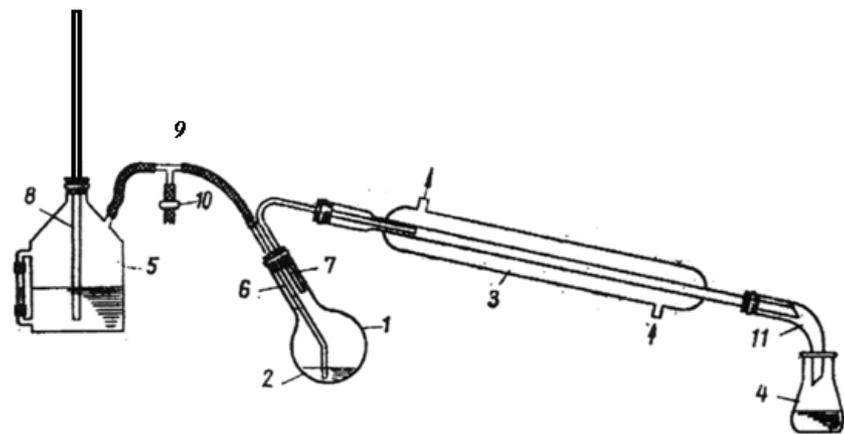
# Автоматическая система твердофазной экстракции (ТФЭ) the Separts (Италия)

Используется в пробоподготовке проб  
крови для определения  
N-нитрозаминов



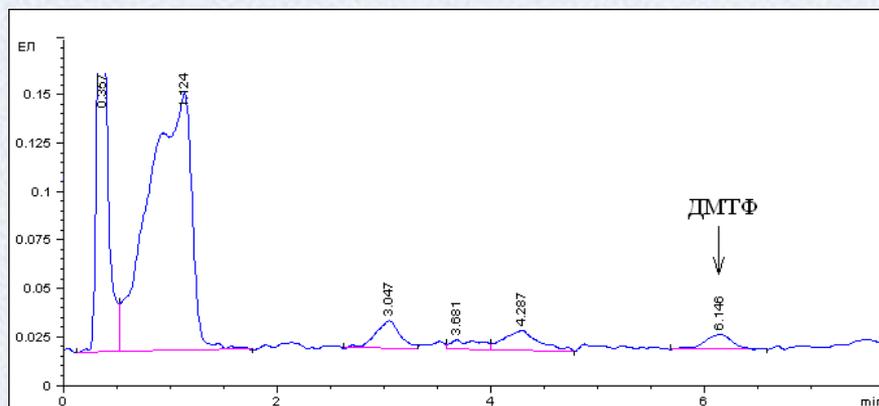
## Прибор для дистилляции с водяным паром:

1—круглодонная колба с длинным горлом; 2—  
перегоняемое вещество и вода; 3—  
холодильник; 4—приемник; 5—  
парообразователь; 6— трубка, по которой  
поступает пар; 7— пароотводная трубка; 8—  
предохранительная трубка; 9— тройник;  
10—винтовой зажим; 11— аллонж.

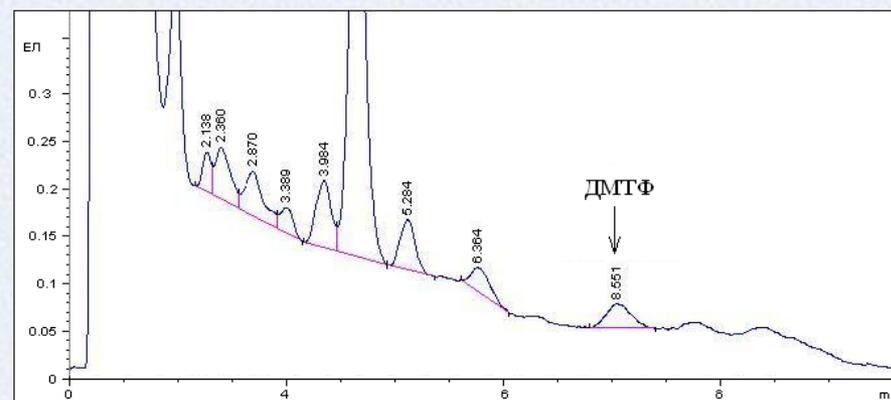


**МУК 4.1.2955-11 Определение массовой концентрации диметилового эфира терефталевой кислоты (диметилтерефталата) в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии**

**МУК 4.1.2956-11 Определение массовой концентрации диметилового эфира терефталевой кислоты (диметилтерефталата) в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии**



Хроматограмма анализа диметилтерефталата в крови ( $C = 0,02 \text{ мг/дм}^3$ )



Хроматограмма анализа диметилтерефталата в моче ( $C = 0,008 \text{ мг/дм}^3$ )

Измерение массовой концентрации диметилтерефталата (ДМТФ) в биологических средах основано на его извлечении из плазмы крови и мочи способом **твердофазной экстракции на полимерном сорбенте Oasis HLB** и анализе экстракта на жидкостном хроматографе в градиентном режиме элюирования с использованием флуориметрического детектора.

Диапазон измеряемых концентраций  $0,02\text{-}1 \text{ мг/дм}^3$  в крови и  $0,001\text{-}1 \text{ мг/дм}^3$  в моче с погрешностью не более 24 %.

## **МУК 4.1.3230–14 «Измерение массовых концентраций химических элементов в биосредах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой»**

- устанавливают порядок количественного определения ванадия, хрома, марганца, никеля, меди, цинка, селена, стронция, таллия, свинца, кадмия, мышьяка на уровне следовых концентраций

### **Методические особенности определения:**

- ❖ обоснована оптимальная схема подготовки образцов для устранения «матричного» эффекта (кислотное растворение в концентрированной азотной кислоте)
- ❖ отработаны параметры реакционно/столкновительного режима работы прибора для подавления интерференционных наложений (использование гелия в качестве газа-реактанта, скорость его подачи 4,5-5,0 мл/мин)
- ❖ установлены оптимальные элементы внутреннего сравнения и пределы количественного определения для каждого определяемого элемента (при определении ванадия, хрома, марганца, никеля, меди, цинка, мышьяка, селена, стронция оптимальным элементом внутреннего сравнения является германий  $\text{Ge}^{72}$ , для кадмия – индий  $\text{In}^{115}$ , для свинца и таллия – тербий  $\text{Tb}^{159}$ ).

# МУК 4.1.3230–14 «Измерение массовых концентраций химических элементов в биосредах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой»

Наименование определяемого элемента	Массы изотопов, используемых при измерении	Диапазон измерений в крови, мкг/дм <sup>3</sup>	Диапазон измерений в моче, мкг/дм <sup>3</sup>	Элемент внутреннего сравнения	Режим работы прибора
Ванадий	51	От 0,1 до 50 включ.	От 0,1 до 50 включ.	Ge <sup>72</sup>	He
Хром	53	От 0,5 до 100 включ.	От 0,1 до 100 включ.	Ge <sup>72</sup>	He
Марганец	55	От 5 до 100 включ.	От 0,1 до 100 включ.	Ge <sup>72</sup>	-
Никель	60	От 1 до 100 включ.	От 0,1 до 100 включ.	Ge <sup>72</sup>	He
Медь	63	От 200 до 5 000 включ.	От 1,0 до 200 включ.	Ge <sup>72</sup>	-
Цинк	66	От 1000 до 15 000 включ.	От 50 до 1000 включ.	Ge <sup>72</sup>	-
Селен	82	От 25 до 1 000 включ.	От 5 до 500 включ.	Ge <sup>72</sup>	He
Стронций	88	От 10 до 1 000 включ.	От 50 до 1500 включ.	Ge <sup>72</sup>	-
Таллий	205	От 0,05 до 100 включ.	От 0,1 до 50 включ.	Tl <sup>159</sup>	-
Свинец	206	От 0,1 до 1500 включ.	От 0,1 до 500 включ.	Tl <sup>159</sup>	-
Кадмий	111	От 0,05 до 1000 включ.	От 0,1 до 50 включ.	In <sup>115</sup>	-
М	55	От 0,1 до 500	От 1 до 100	Ge <sup>72</sup>	He

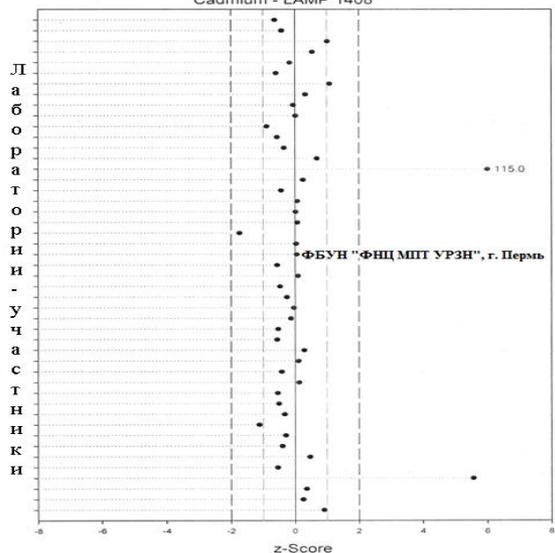


# Участие в международной программе сличительных испытаний LAMP, организованной Агентством по охране окружающей среды США.



Код исследуемого образца	Результат исследования		
	Аттестованное значение LAMP	Результат, полученный лабораторией ФБУН	Z-индекс
<b>Свинец, мкг/дл</b>			
1407	4,69±0,12	5,73±1,37	1,0
1408	65,62±2,5	58,55±7,0	-0,2
1409	0,45±0,03	0,6±0,14	-0,3
<b>Кадмий, мкг/л</b>			
1407	3,1±0,13	3,18±0,64	0,2
1408	10,46±0,47	9,93±2,0	0,1
1409	0,68±0,07	0,65±0,23	-0,4
<b>Ртуть, мкг/л</b>			
1407	1,68±0,84	1,38±0,14	0,6
1408	6,24±0,22	5,58±0,6	-0,3
1409	10,52±0,23	9,58±0,96	-0,2

Cadmium - LAMP 1408



Количественное определение свинца, кадмия в указанных образцах проводили в соответствии с методическими указаниями МУК 4.1.3230-14 «Измерение массовых концентраций химических элементов в биосредах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой».

# Региональные фоновые уровни содержания химических соединений в биологических средах детей

№	Химическое соединение	Концентрация, мг/дм <sup>3</sup>	
		в крови	в моче
<b>Алифатические углеводороды</b>			
1	Гексан	0	0
2	Гептан	0	0
<b>Алифатические спирты</b>			
3	Метиловый спирт	0,369 ± 0,143	1,251 ± 0,294
4	Этиловый спирт	0,605 ± 0,216	0
5	Пропиловый спирт	0	0
6	Изопропиловый спирт	1,7359 ± 0,788	1,080 ± 0,044
7	Бутиловый спирт	0	0
8	Изобутиловый спирт	0	0
<b>Алифатические альдегиды (ВЖХ, экстракция)</b>			
9	Формальдегид	0,005 ± 0,0014	0,0040 ± 0,0009
10	Ацетальдегид	0,077 ± 0,009	0,068 ± 0,009
11	Масляный альдегид	0	0
12	Пропионовый альдегид	0	0
<b>Кетоны</b>			
13	Ацетон	0,450 ± 0,248	0,265 ± 0,129
<b>Хлорорганические соединения</b>			
14	Хлороформ	0	0
15	Тетрахлорметан	0,00086 ± 0,0016	0,0013 ± 0,0002
16	1,2-Дихлорэтан	0	0

<b>Ароматические углеводороды</b>			
17	Бензол	0	0
18	Толуол	0	0
19	Этилбензол	0	0
20	О-ксилол	0	0
21	м-,п-ксилол	0	0
22	Стирол	0	–
23	Фенол	0,01 ± 0,01	0,280 ± 0,146
24	о, м, п-крезолы	0	–
<b>Ароматические амины</b>			
27	Анилин	0	0
28	N-метиланилин	0	0
29	N-этиланилин	0	0
30	N, N-диметиланилин	0	0
31	N, N -диэтиланилин	0	0
<b>Органические азотсодержащие соединения</b>			
32	Акрилонитрил	0	–
<b>Полиароматические углеводороды</b>			
33	Бенз/а/пирен	0	0

<b>Неорганические соединения</b>			
<b>33</b>	<b>Марганец '''</b>	<b>0,0131</b>	<b>0,0006</b>
<b>34</b>	<b>Медь '''</b>	<b>0,856 ± 0,120</b>	<b>0,01</b>
<b>35</b>	<b>Магний '</b>	<b>33,25 ± 2,87</b>	<b>35,75 ± 15,08</b>
<b>36</b>	<b>Никель'''</b>	<b>0,0023</b>	<b>0,0015</b>
<b>37</b>	<b>Свинец '''</b>	<b>0,0144</b>	<b>0,0006</b>
<b>38</b>	<b>Цинк '''</b>	<b>4770,5 ± 109</b>	<b>0,217</b>
<b>39</b>	<b>Хром '''</b>	<b>0,0027</b>	<b>0,0014</b>
<b>41</b>	<b>Железо '</b>	<b>-</b>	<b>0,087 ± 0,008</b>
<b>42</b>	<b>Ванадий '''</b>	<b>0,00013</b>	<b>0,00061</b>
<b>43</b>	<b>Алюминий ''</b>	<b>0,024 ± 0,015</b>	<b>–</b>
<b>44</b>	<b>Кадмий '''</b>	<b>0,00014</b>	<b>0,00011</b>
<b>45</b>	<b>Мышьяк '''</b>	<b>0,00018</b>	<b>0,0074</b>
<b>46</b>	<b>Селен '''</b>	<b>0,0874±0,0042</b>	<b>0,0186</b>
<b>47</b>	<b>Стронций '''</b>	<b>0,0219</b>	<b>0,148</b>
<b>48</b>	<b>Фторид-ион</b>	<b>–</b>	<b>0,415 ± 0,16</b>

**СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!**