



БИОМОНИТОРИНГ ЭКСПОЗИЦИИ ЧЕЛОВЕКА ЛЕТУЧИМИ ПРОМЫШЛЕННЫМИ ТОКСИКАНТАМИ

Савельева Елена Игоревна
Заведующая лабораторией аналитической
токсикологии

Федеральное государственное унитарное предприятие
**«НИИ гигиены, профпатологии и экологии
человека»** Федерального медико-биологического
агентства, 188663 Ленинградская область,
Всеволожский р-н, г/п Кузьмоловский
esavelieva59@mail.ru

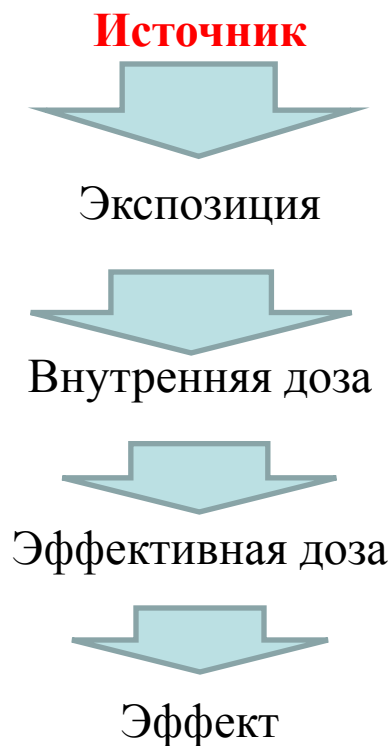
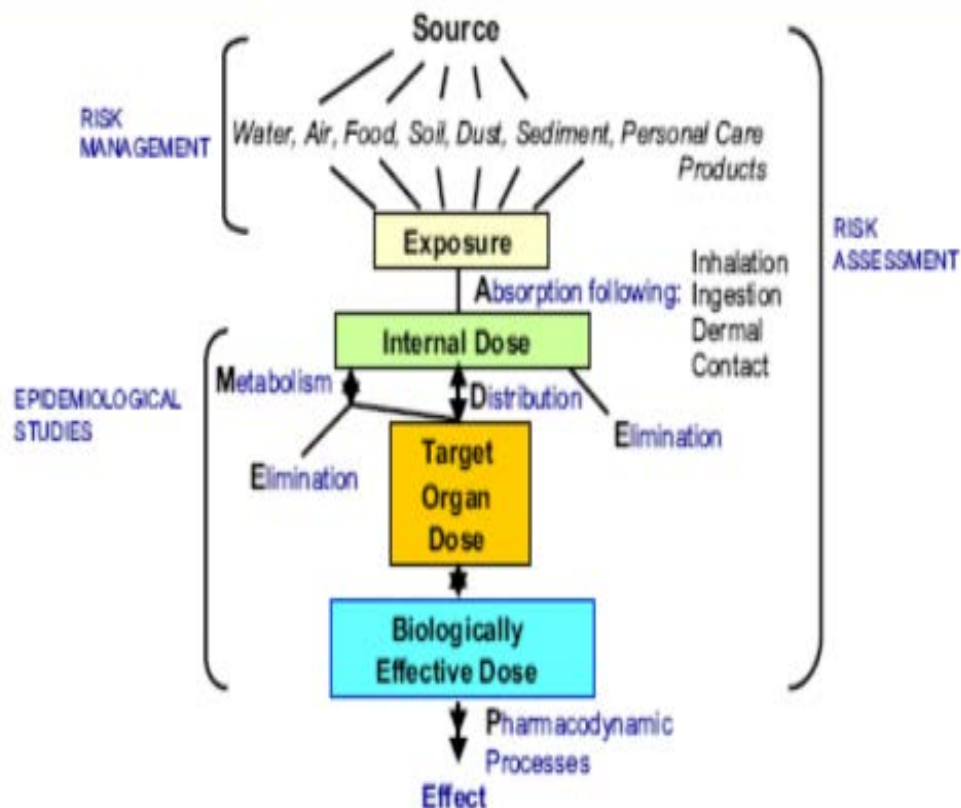
Система гигиенического нормирования в РФ базируется на контроле содержания промышленных токсикантов в объектах внешней среды. Неопределенность оценок, получаемых в рамках внешнего мониторинга, может быть скомпенсирована средствами биомониторинга



Из отчетных материалов CDC (Центра по контролю и профилактике заболеваний США)



- Biomonitoring.info – Environmental Health Research Foundation <http://biomonitoringinfo.org/>
- CDC – National Biomonitoring Program: <http://www.cdc.gov/biomonitoring/>



Общая концепция биомониторинга



Биомониторинг - оценка экспозиции человека химическими соединениями из окружающей среды на основе измерения концентраций химических веществ и их биомаркеров в биопробах: крови, моче, слюне, выдыхаемом воздухе, грудном молоке, тканях. Результаты таких измерений обычно называют "химической нагрузкой на организм человека"



Применение биомониторинга для оценки характера и тяжести воздействия химического фактора / О.И. Орлова, Е.И. Савельева, А.С. Радилов и др. // Медицина труда и промышленная экология. -- 2010. -- № 12. -- С. 28-33

Что принять во внимание при разработке стратегии биомониторинга?

- 1. Целевые метаболиты (биомаркеры);**
- 2. Тип биопробы;**
- 3. Ожидаемую концентрацию (определяется дозой экспозиции, характером поступления вещества, токсикокинетикой, сценарием экспозиции, индивидуальными особенностями организма);**
- 4. Возможности используемых аналитических методов;**
- 5. Параметры токсикометрии (в перспективе – индексы экспозиции).**

В рамках **биомониторинга** (в отличие от классического **ХТА**) основная задача – достоверное количественное определение в биожидкостях следовых концентраций экотоксикантов в минимальном объеме пробы. Желательны: неинвазивный отбор, доступное оборудование, высокая производительность анализа.

Экспозиция ≠ Отравление

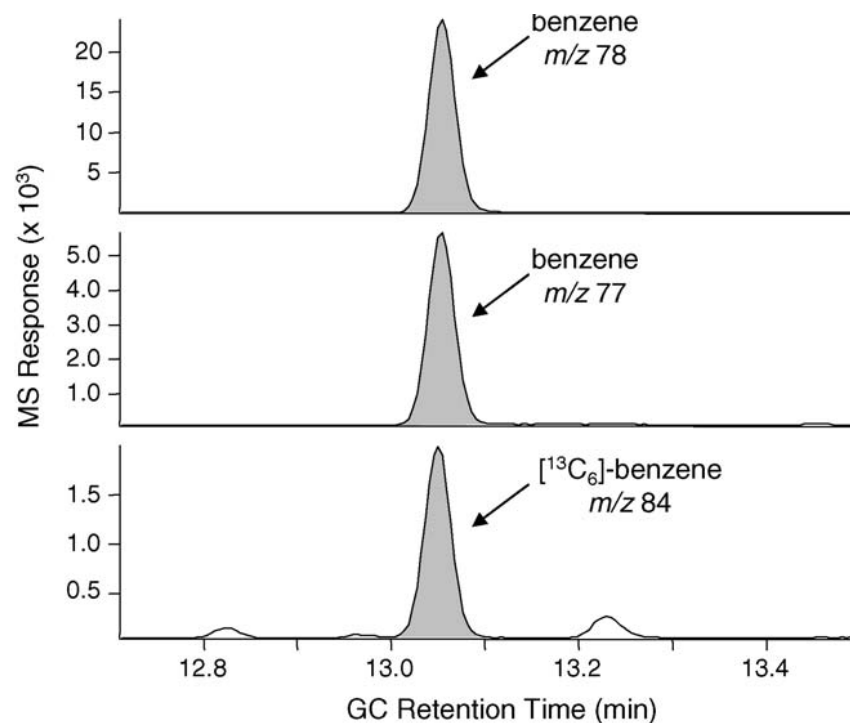
**МЕТОДИКА ИЗМЕРЕНИЙ
МАССОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ
ЛЕТУЧИХ ЭКОТОКСИКАНТОВ
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБАХ
МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ
ХРОМАТОМАСС-
СПЕКТРОМЕТРИИ
№ 222.0319/01.00258/2013**

Для разработки и оптимизации методики был использован готовый раствор модельной смеси экотоксикантов (ЕРА 524.2)

Твердофазная микроэкстракция из равновесного пара «вытеснила» продувку с улавливанием.

- Количественное определение 31 органического соединения в цельной крови с применением изотопномеченых стандартов
- 0.000005 - 0.00012 mcg/ml

B.C. Blount et al. / J. Chromatogr. B 832 (2006) 292–301

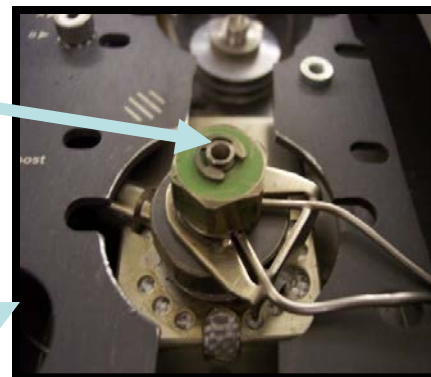


ЛОС, по определению IUPAC, это органические вещества, имеющие при 293,15 К давление паров равное 0,01 кПа или более

ЛОС → SPME → ГХ

Техника твердофазной микроэкстракции (SPME) на волокне идеально отвечает задаче определения летучих органических соединений (ЛОС) методом газовой хроматографии.

Ограничение : низкая воспроизводимость анализа



HANDBOOK of SAMPLE PREPARATION

EDITED BY
Janusz Pawliszyn • Heather L. Lord



WILEY

SOLID PHASE MICROEXTRACTION THEORY AND PRACTICE

SPME

JANUSZ PAWLISZYN

Твердофазная микроэкстракция – одна из величайших идей последней декады XX века.

Простой,
Быстрый, Высокочувствительный,
Экологически дружелюбный
метод разделения и
концентрирования .

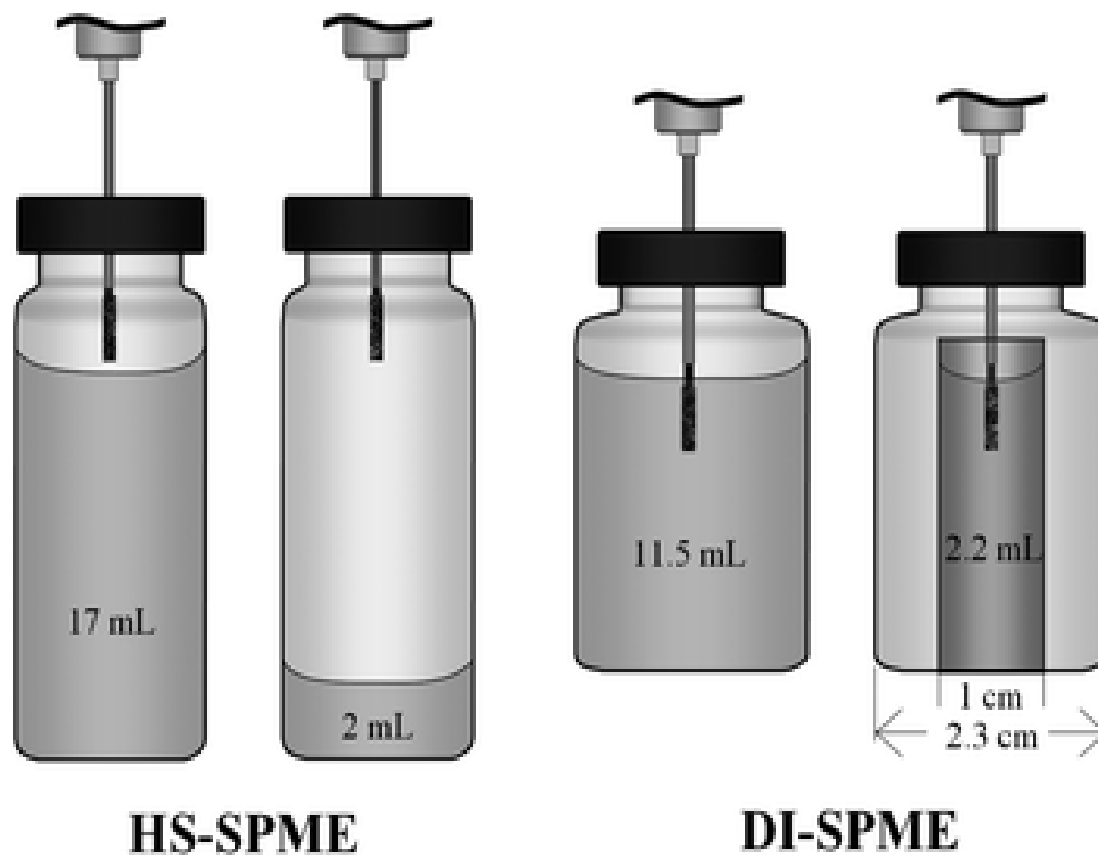
Miniaturization of Sample Handling in Bioanalysis by SPME

Janusz Pawliszyn

Department of Chemistry
University of Waterloo
Waterloo, Ontario, Canada, N2L 3G1



Твердофазная экстракция из равновесного пара и в режиме погружения



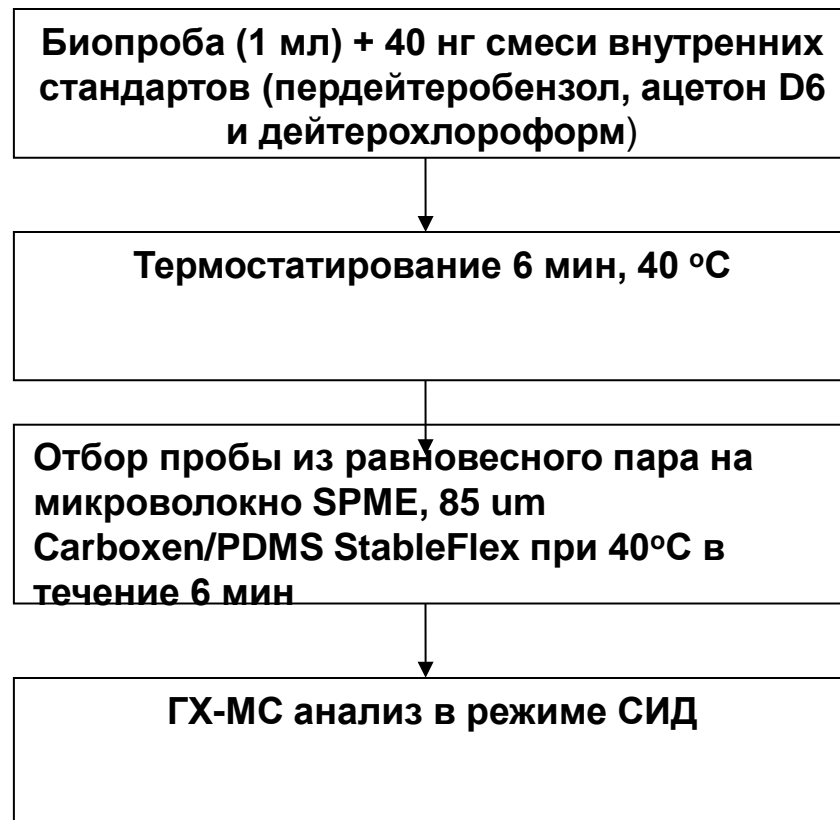
Характеристики определяемых соединений

№ п/п	Название соединения (j - компонент)	Время удерживания, мин, SPB-1701 30м x 0.25мм x 0.25мкм	m/z *	Внутренний стандарт (m - компонент)
1	Этиловый эфир	1,76	59 , 45, 74	Ацетон D6
2	Дисульфид углерода	1,86	76	Ацетон D6
3	Аллилхлорид	1,95	76 , 41	Ацетон D6
4	Акрилонитрил	2,29	53 , 52	Ацетон D6
5	Метилакрилат	2,67	55	Ацетон D6
6	Тетрагидрофуран	2,71	72 , 42	Ацетон D6
7	Бутилхлорид	2,79	56	Хлороформ D
8	Метакрилонитрил	2,92	67	Бензол D6
9	Пропионитрил	2,98	54	Хлороформ D
10	Метилметакрилат	4,12	69 , 100	Бензол D6
11	2-нитропропан	5,19	43 , 41	Бензол D6
12	Хлорацетонитрил	5,85	75 , 48, 77	Бензол D6
13	Этилметакрилат	5,95	69	Бензол D6
14	Пентахлорэтан	11,02	117 , 167	Бензол D6
15	<i>транс</i> -1,4-дихлор-2-бутен	11,98	75 , 89, 124	Ацетон D6
16	Гексахлорэтан	12,13	117 , 201	Бензол D6
17	Нитробензол	14,78	123 , 77	Бензол D6

МЕТОДИКА ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЛЕТУЧИХ ЭКОТОКСИКАНТОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБАХ (КРОВИ, МОЧЕ) МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Диапазон измеряемых концентраций от $1,0 \cdot 10^{-6}$ до $2,0 \cdot 10^{-5}$ мг/см³

Временной интервал, мин	Характеристичные ионы, m/z
0,50-2,10	59; 74; 76; 46; 64
2,10-2,85	52; 53; 55; 72; 84; 86; 56
2,85-3,90	67; 84; 54
3,90-6,50	100; 75; 43; 77; 69
10,0-18,0	89; 117; 167; 201; 123; 136



ИЗВЛЕЧЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ МОДЕЛЬНОЙ СМЕСИ НА МИКРОВОЛОКНО ИЗ РАВНОВЕСНОГО ПАРА ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ 25°C (ВЫБОР ТИПА МИКРОВОЛОКНА)

85 um Carboxen/PDMS
StableFlex

50/30 um
DVB/Carboxen/PDMS
StableFlex

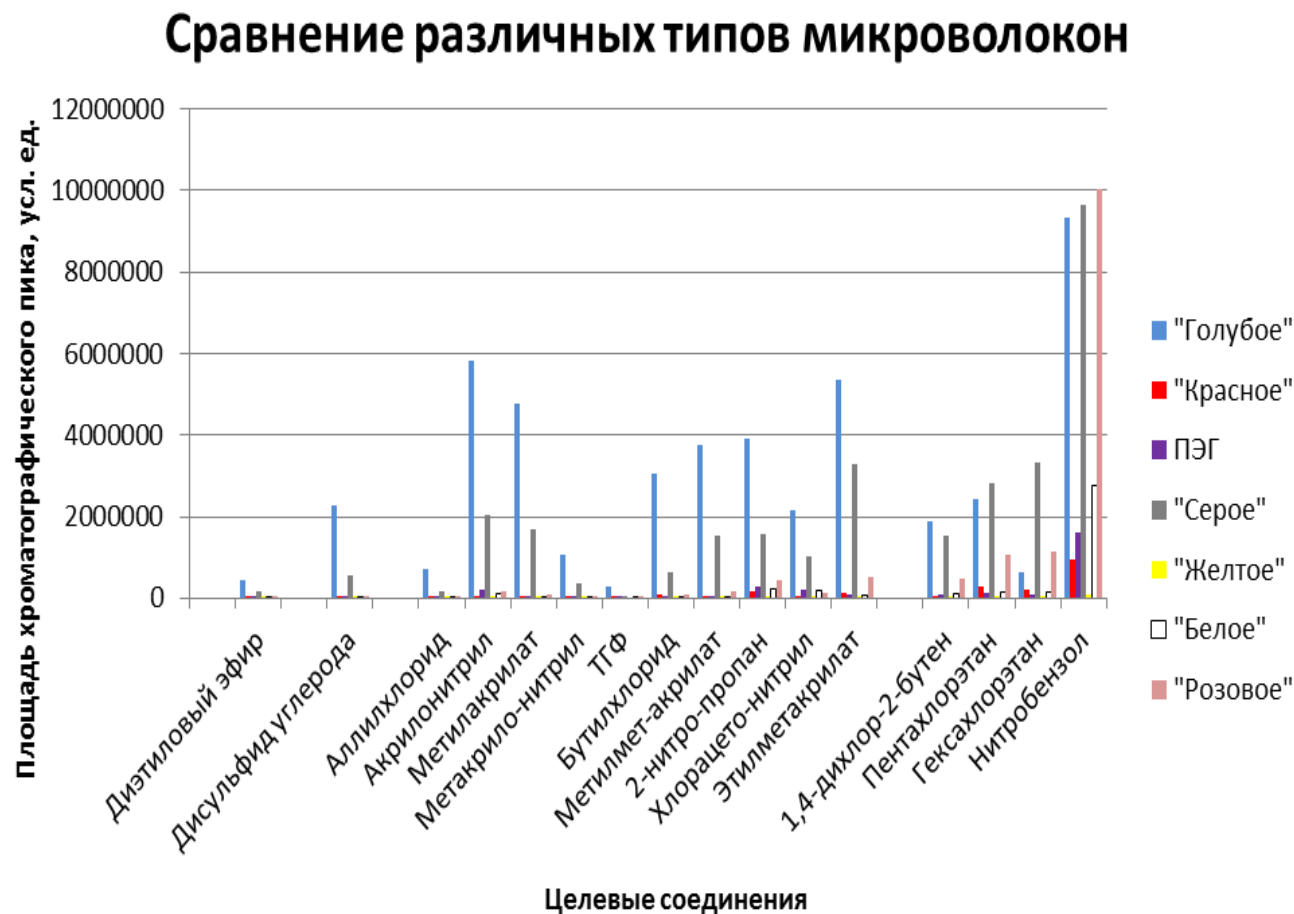
85 um Polyacrylate

100 um PDMS

30 um PDMS

60 um Carbowax (PEG)

65 um PDMS-DVB



Воспроизводимость методики обеспечивается применением внутренних стандартов и автоматизацией процесса

Диапазон измерений, мг/см ³	Относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости, σ_r , %	Относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости σ_R , %	Границы относительной систематической погрешности при доверительной вероятности $P=0,95$, $\pm d_c$, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности $P=0,95$), $\pm d$, %
от $1,0 \cdot 10^{-6}$ до $2,0 \cdot 10^{-5}$	6	8	5	16

№ п/п	Название соединения	Время удерживания, мин	m/z
1	Пердейтробензол	2,96	84
2	Ацетон D6	1,95	46, 64
3	Дейтерохлороформ	2,76	84, 86

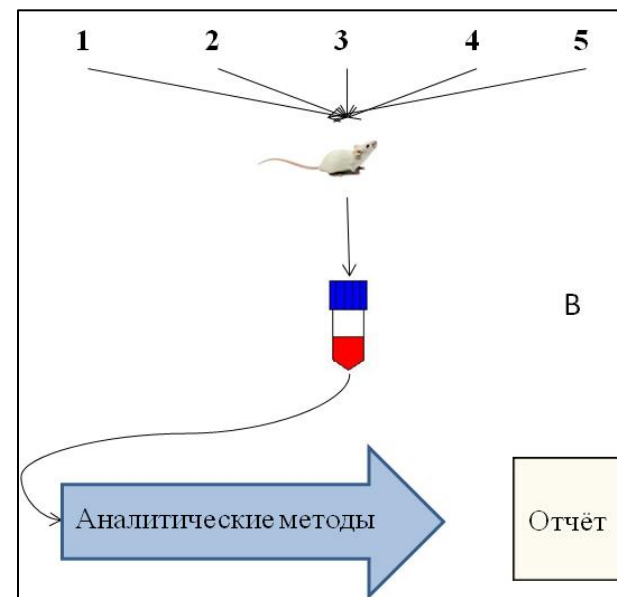


Эксперимент с однократным подкожным введением ЛОС кроликам в режиме кассетного дозирования

№	Соединение	ЛД50, мг/кг	Введенная доза, мг/кг
1	Акрилонитрил	25-186	0,22 (0,001-0,009 ЛД50)
2	Аллилхлорид	23	0,22 (0,009 ЛД50)
3	Дисульфид углерода	2780	0,22 ($7 \cdot 10^{-5}$ ЛД50)
4	Хлорацетонитрил	71-85	0,22 (0,0025-0,003 ЛД50)
5	н-Бутилхлорид	2670	0,22 ($8,2 \cdot 10^{-5}$ ЛД50)
6	транс- 1,4-Дихлор-2-бутен	89	0,22 (0,0025 ЛД50)
7	Диэтиловый эфир	1215	0,22 ($1,8 \cdot 10^{-4}$ ЛД50)
8	Этилметакрилат	3630	0,22 ($6 \cdot 10^{-5}$ ЛД50)
9	Гексахлорэтан	4460	0,22 ($7 \cdot 10^{-5}$ ЛД50)
10	Метакрилонитрил	268	0,22 ($8,2 \cdot 10^{-4}$ ЛД50)
11	Метилакрилат	300	0,22 ($7 \cdot 10^{-4}$ ЛД50)
12	Метилметакрилат	7872	0,22 ($2,8 \cdot 10^{-5}$ ЛД50)
13	Нитробензол	780	0,22 ($2,8 \cdot 10^{-4}$ ЛД50)
14	2-Нитропропан	75	0,22 (0,003 ЛД50)
15	Пентахлорэтан	920	0,22 ($2,4 \cdot 10^{-4}$ ЛД50)
16	Тетрагидрофуран	1650	0,22 ($1,3 \cdot 10^{-4}$ ЛД50)

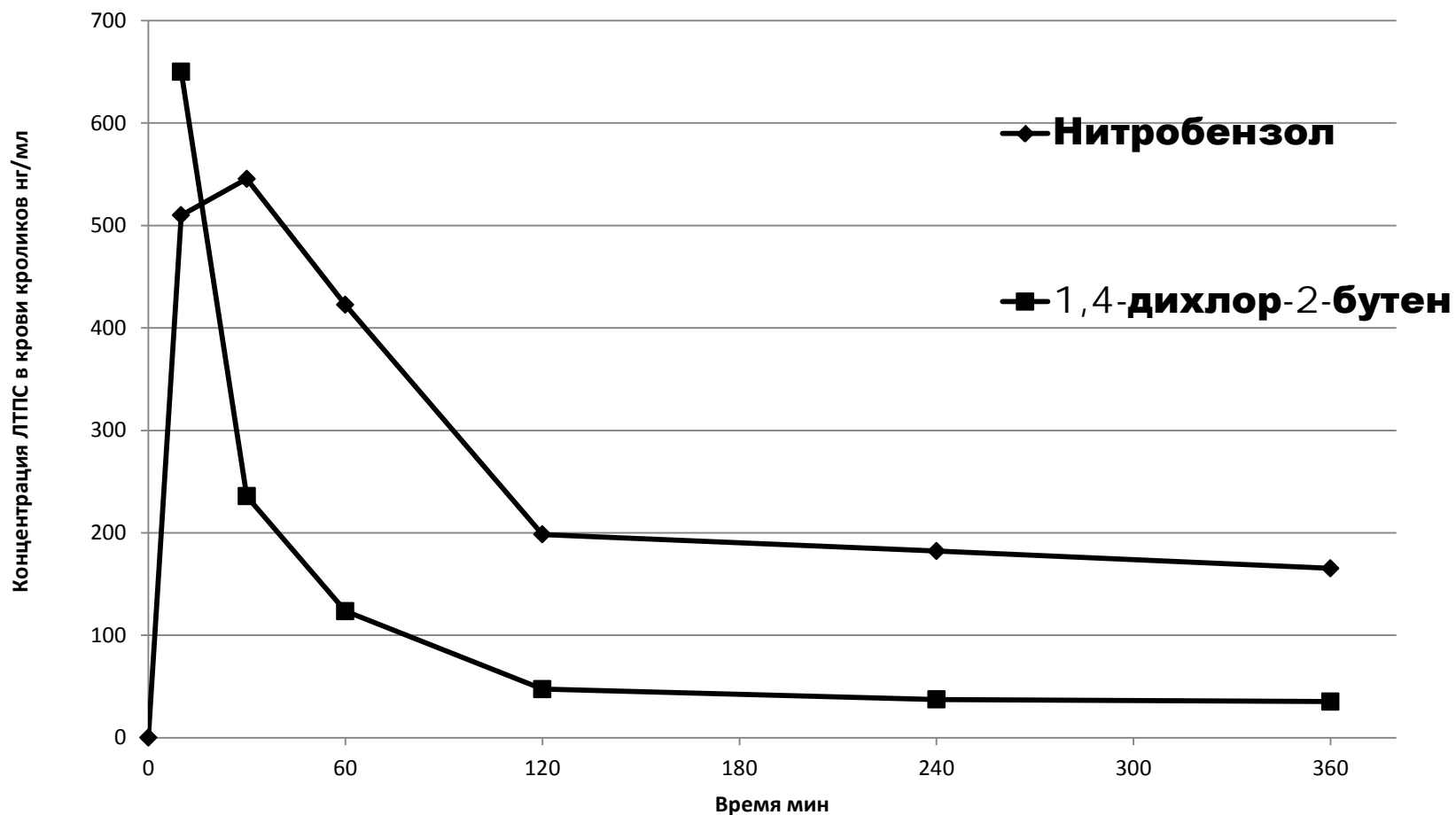
Повышение эффективности оценки сроков возможного обнаружения токсиканта в организме

- Введение одному животному групп (кассет) исследуемых веществ.
- Алгоритм учета токсикокинетического взаимодействия в кассете.
- Разработка и применение методик, позволяющих определять все целевые вещества в одном анализе.



**Оценка
токсикокинетики
методом кассетного
дозирования**

**ЗАВИСИМОСТИ КОНЦЕНТРАЦИИ ЛЕТУЧИХ ЭКОТОКСИКАНТОВ ОТ ВРЕМЕНИ
ПРИ НИЗКОМ (1,4-ДИХЛОР-2-БУТЕН) И ВЫСОКОМ (НИТРОБЕНЗОЛ)
ЗНАЧЕНИЯХ КОНСТАНТ АБСОРБЦИИ**



ЛОС	Периоды детектирования ЛОС, сутки	
	Кровь	Моча
Этиловый эфир	5	>5
Дисульфид углерода	2	1
Аллилхлорид	1	1
Акрилонитрил	1	5
Метилакрилат	1	>5
Метакрилонитрил	1	5
ТГФ	1	5
Бутилхлорид	2	>5
Метилметакрилат	1	1
2-нитропропан	1	5
Хлорацетонитрил	1	1
Этилметакрилат	1	5
1,4-дихлор-2-бутен	1	5
Пентахлорэтан	1	5
Гексахлорэтан	1	5
Нитробензол	1	>5



Выводы

- 1. Внешний (экологический) мониторинг необходим для установления возможных источников поступления экотоксикантов человеку.**
- 2. Биологический мониторинг является индикатором внутренней дозы и способен устранить неопределенность внешнего мониторинга.**
- 3. Уже сегодня имеется научный и методический инструментарий для достоверного и высокочувствительного определения биомаркеров ряда экотоксикантов в моче и крови.**
- 4. Требуется разработка рекомендаций для интерпретации результатов количественного определения концентраций биомаркеров экотоксикантов в биожидкостях человека.**
- 5. Необходимо провести дополнительные исследования для установления критериев корреляционной зависимости между концентрациями биомаркеров экотоксикантов в моче и крови и уровнем экспозиции.**



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!
esavelieva59@mail.ru