

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Нурисламова Т.В., Уланова Т.С., Попова Н.А., Мальцева О.А.

МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ КОНТРОЛЯ СОДЕРЖАНИЯ СТОЙКОГО ОРГАНИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНИТЕЛЯ ГЕКСАХЛОРБЕНЗОЛА В КРОВИ

ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 614045, Пермь

Введение. Опасную группу соединений, оказывающих негативное влияние на здоровье населения и загрязняющих окружающую среду, представляют стойкие органические загрязнители (СОЗ), в том числе хлорорганические пестициды, гексахлорбензол. Цель исследования – методическое обеспечение контроля содержания гексахлорбензола в биологических средах человека.

Материал и методы. Для контроля гексахлорбензола в крови разработана газохроматографическая методика определения. Определение гексахлорбензола в крови основано на использовании капиллярной газовой хроматографии с режимом линейного программирования температуры колонки, детектора электронного захвата (ДЭЗ), экстракции органическим растворителем на этапе пробоподготовки. При реализации разработанной методики оценивали показатели – точность и характеристики погрешности результатов анализа. Нижний предел количественного определения (ЛОQ) гексахлорбензола в крови составил $0,000024 \text{ мкг/см}^3$, при диапазоне определяемых концентраций от $0,00015$ до $0,005 \text{ мкг/см}^3$ (погрешность методики определения $\geq 20\%$), что позволяет адекватно диагностировать химическую нагрузку в крови высокотоксичного стойкого органического загрязнителя.

Результаты. Показатели качества результатов количественного химического анализа гексахлорбензола в крови составили: точность (правильность и прецизионность) – 15,62%, повторяемость – 3,45%, воспроизводимость – 4,65%. В процессе апробации методики в крови обследуемой группы обнаружены концентрации гексахлорбензола в диапазоне $0,0003 \pm 0,0001 \div 0,0007 \pm 0,0001 \text{ мкг/см}^3$. Высокая эффективность газохроматографического определения гексахлорбензола в образцах крови достигнута путём подбора оптимальных условий газохроматографического анализа: капиллярная колонка серии HP-1- 35м · 0,32мм · 0,25мкм с программированием температуры, оптимальной температуры испарителя и ДЭЗ.

Заключение. Отработанный способ подготовки пробы крови к анализу, включающий жидкостную экстракцию толуолом, денатурации белка центрифугированием биосреды при 7000 об/мин в течение 15 мин при pH 6–7 в сочетании с газохроматографическим анализом и ДЭЗ позволил достичь полноты извлечения гексахлорбензола из крови на 99,7%.

Ключевые слова: гексахлорбензол; биосреда (кровь); детектор электронного захвата; экстракция органическим растворителем; полнота извлечения.

Для цитирования: Нурисламова Т.В., Уланова Т.С., Попова Н.А., Мальцева О.А. Методическое обеспечение контроля содержания стойкого органического загрязнителя гексахлорбензола в крови. *Гигиена и санитария*. 2019; 98 (3): 343-348. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-3-343-348>

Для корреспонденции: Нурисламова Татьяна Валентиновна, доктор биол. наук, зам. зав. отделом химико-аналитических методов исследования ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 614045, г. Пермь. E-mail: nurtat@fcrisk.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила 03.10.2018

Принята к печати 06.02.2019

Nurislamova T.V., Ulanova T.S., Popova N.A., Maltseva O.A.

METHODICAL SUPPORT FOR CONTROL OVER THE CONCENTRATION OF PERSISTENT ORGANIC POLLUTANT HEXACHLOROBENZENE IN BLOOD

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation

Introduction. Persistent organic pollutants (POP) are extremely dangerous compounds contaminating the environment and exerting the negative impact on human health. Organochlorine pesticides, including hexachlorobenzene, are a specific group among POP. Our research goal is methodological support for the hexachlorobenzene content control in human biological environments.

Material and methods. We developed highly both sensitive and selective procedure for determining hexachlorobenzene in blood. Hexachlorobenzene determination in blood is based on the application of capillary gas chromatography with linear programming of a column temperature, electron capture detector (ECD), and extraction with an organic solvent at a sample preparation stage. When implementing the developed methodology, the following indices were evaluated: accuracy and error characteristics of the analysis results. The lower limit of hexachlorobenzene quantification (LOQ) in blood amounted to $0.000024 \text{ }\mu\text{g/cm}^3$, with the range of detectable concentrations from 0.00015 to 0.005 (determination method error $\geq 20\%$), which allows to adequately diagnose chemical burden with a highly toxic persistent organic pollutant in blood.

Results. The results of quantitative chemical analysis of hexachlorobenzene contents in blood had the following quality indices: precision and correctness amounted to 15.621%; repeatability - 3.45%; reproducibility - 4.65%. In the process of testing the method, concentrations of hexachlorobenzene in the range of $0.0003 \pm 0.0001 \div 0.0007 \pm 0.0001 \text{ }\mu\text{g/cm}^3$ were detected in the blood of the examined group.

Discussion. The high efficiency of gas chromatography determination of hexachlorobenzene in blood was achieved via selection of optimal conditions for chromatographic analysis: capillary column HP-1- 35m·0.32mm·0.25 μm with linear programming of column temperature, carrier gas (nitrogen), electron capture detector (ECD). The developed

method of the preparing a blood sample for analysis, including liquid extraction with toluene, protein denaturation by centrifuging the biological medium at 7000 rpm for 15 min at pH of 6-7 in combination with gas chromatographic analysis and an electron capture detector (ECD) made it possible to complete extraction of hexachlorobenzene from blood in an amount of 99.7%.

Key words: *hexachlorobenzene; biological medium (blood); electron capture detector (ECD); extraction with an organic solvent; complete extraction.*

For citation: Nurislamova T.V., Ulanova T.S., Popova N.A., Maltseva O.A. Methodical support for control over the concentration of persistent organic pollutant hexachlorobenzene in blood. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2019; 98(3): 343-348. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-3-343-348>

For correspondence: Tatyana V. Nurislamova, MD, Ph.D., DSci., Deputy to Head of Chemical-Analytical Research Department Federal Scientific Center For Medical And Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation. E-mail: nurtat@ferisk.ru

Information about the author: Zaitseva N.V., <http://orcid.org/0000-0003-2356-1145>;
Ulanova T.S., <http://orcid.org/0000-0002-9238-5598>; Nurislamova T.V., <http://orcid.org/0000-0002-2344-3037>;
Popova N.A., <http://orcid.org/0000-0002-9730-9092>; Maltseva O.A., <http://orcid.org/0000-0001-7664-3270>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received: 03 October 2018
Accepted: 06 February 2019

Введение

Стойкие органические загрязнители (СОЗ) представляют группу опасных соединений, которые загрязняют окружающую среду и оказывают негативное влияние на здоровье человека, широко используются в промышленности и сельском хозяйстве (хлорорганические пестициды) [1, 2]. По Стокгольмской конвенции в перечень стойких органических загрязнителей входит гексахлорбензол¹ [3, 4].

Среди СОЗ, появление которых в окружающей среде обусловлено воздействием человека, выделяются хлорорганические пестициды (ХОП), в том числе гексахлорбензол [5]. В России гексахлорбензол широко используется в сельском хозяйстве в составе фунгицидов (гамма-гексан, гексатиурам, меркурбензол, фагус и др.) как протравитель семян для предотвращения заболеваний пшеницы, гречихи, ржи, сои и других зерновых культур. В промышленности гексахлорбензол используется в качестве огнестойкой пропитки, как пластификатор для поливинилхлоридов в электроизоляционных материалах и в органическом синтезе. В настоящее время применяется в оборонной промышленности для производства пиротехнических средств. В Европейских странах гексахлорбензол запрещён к применению ввиду экотоксикологических свойств.

Гексахлорбензол – хлорированное моноциклическое ароматическое соединение, в котором бензольное кольцо полностью замещено атомом хлора, агрегатное состояние – кристаллы светло-серого цвета с неприятным запахом, пары гексахлорбензола раздражают слизистые оболочки и оказывают наркотическое действие². Смертельная доза составляет 50 граммов. Гексахлорбензол устойчив в окружающей среде и накапливается в пищевой цепи. Его длительное воздействие вызывает заболевание печени, центральной нервной системы, сердечно-сосудистой системы и репродуктивных органов. Накапливается в жировых тканях человека, считается возможным канцерогеном для человека (группа 2 В МАИР)³ [6–10].

По Стокгольмской конвенции определены меры по сокращению и устранению выбросов СОЗ в окружающую среду, что послужило мощным импульсом для развития химико-аналитического контроля СОЗ [11, 12].

¹ О ратификации Стокгольмской конвенции о стойких органических загрязнителях: Федеральный закон от 27.06.2011 № 164-ФЗ. Президент России: официальный сайт. Available at: <http://kremlin.ru/acts/bank/33468> (дата обращения: 18.05.2018).

² Вредные вещества в промышленности: справочник для химиков, инженеров и врачей: в 3-х тт., 7-е изд., перераб. и доп./ Под ред. Н.В. Лазарева, Э.Н. Левиной. – Л.: Химия, 1976. Том I: Органические вещества: 592.

³ Майстренко В.Н., Клюев Н.А. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей. 3-е изд. (эл.). – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. Available at: <http://znanium.com/catalog/product/550567> (дата обращения: 18.05.2018).

Для выполнения решений Стокгольмской конвенции по СОЗ необходимо обеспечить гармонизацию существующих и вновь разрабатываемых методик анализа на содержание СОЗ, а также разработать скрининговые методики анализа СОЗ не только в объектах окружающей среды, но и в биологических средах человека.

В настоящее время перечень нормируемых показателей СОЗ в объектах окружающей среды расширяется, что требует разработки высокочувствительных и селективных методик, позволяющих выполнять определение опасных для человека токсичных соединений с высокой точностью и достоверностью⁴ [13–16].

Целью настоящих экспериментальных исследований явилась разработка методического обеспечения контроля содержания гексахлорбензола в крови человека.

Материал и методы

Достоверность и прослеживаемость результатов анализа, полученных при применении методики количественного химического анализа (МКХА), зависит от её метрологического уровня, который определяется качеством реализации самой процедуры разработки МКХА⁵ и её валидации при оценке пригодности⁶.

Согласно ГОСТ Р 8.563–2009 показатель точности измерения устанавливали с учётом составляющих погрешностей, таких как методическая, инструментальная, вносимая оператором при отборе и приготовлении пробы.

В соответствии с рекомендациями РМГ 61–2010 [17] и ГОСТ Р ИСО 5725-1-6–2002⁷ выполняли оценку характеристик погрешности измерений для методики [18, 19].

Реактивы и материалы. Для приготовления градуировочных растворов и отработки условий метода пробоподготовки использовали стандартные образцы состава пестицида гексахлорбензола квалификации ГСО № 9106–2008 (ООО «Научно-производственный и аналитический центр Эколан», Москва); толуол химически чистый CAS 108-88-3 с массовой долей основного вещества 99,7% (ООО «Экос-1»).

⁴ Михеева А.Ю. Определение стойких органических загрязнителей в объектах окружающей среды: унификация алгоритма пробоподготовки для хромато-масс-спектрометрического анализа: автореферат дис. ... канд. техн. наук: 03.00.16, 02.00.02. Москва, 2009: 22.

⁵ Р 50.2.090–2013 ГСИ. Методики количественного химического анализа. Общие требования к разработке, аттестации и применению. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200094703> (дата обращения: 22.02.2017).

⁶ ГОСТ Р 8.563–2009 Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Методики (методы) измерений. Available at: www.tsu.ru/upload/medialibrary/2c9/gost_r_8_563_2009.pdf (дата обращения: 22.02.2017).

⁷ ГОСТ Р ИСО 5725-1-6–2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. – М.: Госстандарт России, 2002. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200029975> (14.07.2017).

Таблица 1

Оптимальные параметры газохроматографического анализа

Параметр	Состояние
Капиллярная колонка, м	НЖФ НР-1 длиной 35
Начальная температура, °С	70
Скорость подъема температуры, °С/мин	С 25 до 180 С 10 до 210 С 5 до 230
Конечная температура нагрева, °С	230
Температура испарителя, °С	270
Расход газа-носителя, см ³ /мин	20
Режим детектора, °С	270

Аппаратура. Исследования по разработке методического обеспечения контроля гексахлорбензола в крови выполняли на газовом хроматографе «Кристалл-5000» с ДЭЗ и капиллярной колонкой НР-1- 35м · 0,32мм · 0,25мкм.

Метод абсолютной градуировки. Приготовление стандартного раствора № 1. В мерную колбу вместимостью 100 см³, заполненную на 70 см³ гексаном, вносили навеску гексахлорбензола массой 10 мг. Доводили объём смеси гексана в колбе до метки. Полученный раствор имел массовую концентрацию гексахлорбензола С = 100 мкг/см³.

Приготовление стандартного раствора № 2. В мерную пробирку объёмом 10 см³ дозатором добавляли деионизованную воду в объёме 4 см³, вводили микрошприцем 2 мм³ стандартного раствора гексахлорбензола концентрацией 100 мкг/см³. Концентрация стандартного раствора № 2 составляет 0,05 мкг/см³.

Приготовление растворов для градуировочной характеристики гексахлорбензола. Растворы для градуировочной характеристики готовили в мерных пробирках вместимостью 10 см³. Для этого в каждую пробирку дозатором вносили биологическую среду (кровь) объёмом 5 см³, затем вносили стандартный раствор № 2 объёмом 15, 30, 60, 125, 250 и 500 мм³. Диапазон полученных концентраций составил 0,00015, 0,0003, 0,0006, 0,00125, 0,0025 и 0,005 мкг/см³ соответственно.

Приготовление раствора для контроля качества. Из стандартного раствора гексахлорбензола № 2 путём последовательного разбавления деионизованной водой готовили растворы для контроля качества QC (0,0002, 0,005, 0,01 мкг/см³).

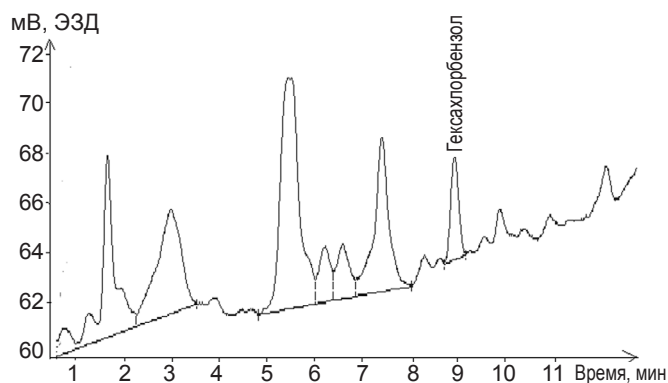
Пробоподготовка. В приготовленный градуировочный раствор объёмом 5 см³ дозатором добавляли органический растворитель (толуол) объёмом 3 см³ и выполняли жидкостную экстракцию (время контакта фаз 5 мин). После экстракции раствор центрифугировали при 7 000 об/мин в течение 15 мин. Затем 1 мм³ верхнего слоя органического растворителя (толуол) вводили в хроматографическую колонку через испаритель.

Условия газохроматографического определения гексахлорбензола в крови. Выполненные экспериментальные исследования позволили установить оптимальные газохроматографические параметры (табл. 1)

Хроматограмма гексахлорбензола стандартного раствора в крови представлена на рисунке.

Аналитические характеристики методики. Оценку влияния (интерференций) биологической матрицы на результаты химического анализа гексахлорбензола выполняли на образцах крови различных доноров ($n = 11$) с внесёнными стандартными образцами. Образцы крови проверены на отсутствие интерференций на времени удерживания аналита. Критерий селективности составил 98%. Стандартное квадратичное отклонение (СКО) полученных результатов между образцами крови не превышало 14%.

Метрологическая аттестация методики. Аттестация методики определения гексахлорбензола в крови выполнена расчётным способом с известной концентрацией для нижней, средней и верхней границ измеряемого диапазона. Систематическую составляющую погрешности измерения оценивали методом до-



Хроматограмма стандартного раствора гексахлорбензола с содержанием (Сгхб = 0,05 мкг/см³).

бавок определяемого компонента с применением набора стандартных образцов с известными характеристиками и погрешностями. Для оценки точности методики проводили эксперимент по внесению известных количеств аналитического стандарта в биологическую матрицу на двух уровнях (один равен пределу определения, другой в сто раз больше) в пяти повторениях каждого уровня (параллельно 2 контрольных образца).

Предел количественного определения (LOQ) оценивали путём определения минимального содержания гексахлорбензола в образце крови с заданной степенью точности, характеризующейся предельно допустимой величиной относительного СКО полученных результатов [20].

Полнота извлечения гексахлорбензола из крови. Экспериментально устанавливали полноту извлечения гексахлорбензола методом «введено–найдено» на трёх уровнях концентраций аналита в пяти измерениях. Затем вычисляли среднее значение полноты извлечения.

Точность и достоверность результатов определяли на нижней границе диапазона, верхней (75%) и середине (50%) линейного диапазона методики (3 аналитические серии). Измерения проводили в течение трёх дней для каждого диапазона методики. Установленное значение среднеквадратического отклонения, соответствующее пределу количественного определения, не превышало 20% (требования FDA и ЕМА) [21]. Достоверность полученных результатов рассчитывали как отношение среднего значения концентрации внутри одной или между тремя аналитическими сериями к истинному значению концентрации гексахлорбензола. Полученные предельно допустимые значения достоверности концентраций гексахлорбензола стандартного образца для нижней границы диапазона составили 95,8–100%, для остальных уровней концентраций – 97–100% [22].

Результаты

Хроматографическое определение гексахлорбензола в крови с ДЭЗ. В процессе экспериментальных исследований по разработке методики изучали факторы, влияющие на разделение гексахлорбензола и компонентов матрицы биологической среды: тип и толщину пленки неподвижной фазы (НЖФ) капиллярной колонки, геометрические размеры, природу газа-носителя и его скорость, температурный режим колонки, ДЭЗ и испарителя [23, 24]. В исследованиях апробированы капиллярные колонки различных серий и различных типов НЖФ: ДВ-624, НР-FFAP, НР-1. Эффективное разделение гексахлорбензола с матричными компонентами достигнуто на капиллярной колонке серии НР-1 длиной 35 м, толщиной фазы 0,25 мкм и внутренним диаметром 0,32 мм. Для повышения чувствительности и селективности определения гексахлорбензола в крови применяли режим программирования колонки, варьировали скоростью нагревания колонки, расходом газа-носителя и делением потока (газ:воздух). Экспериментально отработанные оптимальные газохроматографические параметры представлены в табл. 2.

В режиме 2 (см. табл. 2) интерференций гексахлорбензола с компонентами матрицы не установлено, поэтому этот режим выбран для дальнейших экспериментальных исследований.

Таблица 2

Газохроматографические параметры для определения гексахлорбензола в крови

Режим	Температура, °С		
	Испаритель	Колонка	Детектор
1	260	150–250	280
2	270	70–230	270
3	260	80–220	270

Для количественного определения гексахлорбензола в крови применяли метод абсолютной градуировки.

Комплексное использование газохроматографического анализа в сочетании с экстракцией органическим растворителем и оптимальных условий пробоподготовки крови к химическому анализу гексахлорбензола позволило установить нижний LOQ, который составил 0,000024 мкг/см³.

При отработанных оптимальных условиях газохроматографического анализа и пробоподготовки эффекта матрицы на увеличение или подавление аналитического сигнала гексахлорбензола не наблюдалось. Среднеквадратическое отклонение матричного эффекта составило 4,33%.

Подготовка образца крови к химическому анализу гексахлорбензола. Для достижения оптимальной полноты извлечения гексахлорбензола из крови экспериментально отработаны условия процедуры экстракции [25–30]. Для этого использовали органические растворители различной полярности (полярные, малополярные, неполярные), варьировали объёмами экстрагента – органического растворителя, числом экстракций, рН-среды и временем достижения межфазного равновесия. Результаты исследований приведены в табл. 3, 4.

Экспериментальным путём установлено, что полнота извлечения гексахлорбензола из крови при максимальной селективности достигнута при подобранных оптимальных условиях газохроматографического анализа, концентрировании гексахлорбензола из крови (время контакта 5 мин) органическим растворителем (толуол) объёмом 3 см³, денатурации белка центрифугированием биосреды при 7 000 об/мин в течение 15 мин, при рН = 6–7 и последующем определении на газовом хроматографе с ДЭЗ.

Таблица 4
Оптимальные параметры процесса полноты извлечения гексахлорбензола из биологической среды

Органический растворитель	Объём растворителя, см ³	Время контакта фаз, мин	Скорость центрифугирования, об/мин	рН	Полнота экстракции, %
Толуол	3	5	7 000	6–7	99,9

Таблица 5

Точность и достоверность определения гексахлорбензола экстракцией органическим растворителем

Введено, мг/дм ³	Обнаружено, мг/дм ³	Точность, %	Достоверность, %
<i>Внутри одной аналитической серии</i>			
0,00015	0,00015 ± 0,0000	8,40	100,0
0,0025	0,00249 ± 0,00001	4,09	99,6
0,005	0,00501 ± 0,00005	6,52	100,2
<i>Между тремя аналитическими сериями</i>			
0,00015	0,00015 ± 0,00001	13,6	100,6
0,0025	0,00247 ± 0,00004	5,4	98,8
0,005	0,00507 ± 0,00007	9,8	101,4

Среднее значение полноты извлечения гексахлорбензола из крови при оптимально отработанных параметрах экстракции составило 99,9% (n = 6).

Метод абсолютной градуировки. Для количественного определения гексахлорбензола в крови выполняли по 5 измерений концентраций каждого уровня диапазона 0,00015–0,005 мкг/см³. Построенный градуировочный график имел линейный характер с коэффициентами корреляции 0,994–0,996, СКО не превышало 10%.

Точность и достоверность. Проанализированы три серии образцов QC, результаты приведены в табл. 5.

Точность определения гексахлорбензола внутри аналитической серии изменялась от 4,09 до 8,4%, достоверность составила 99,6–100%. Между сериями точность определения изменялась от 5,4 до 13,6%, достоверность от 98,8 до 101,4%.

Обсуждение

В процессе апробации разработанной газохроматографической методики выполнены скрининговые исследования образцов крови детей Пермского края на содержание гексахлорбензола.

В образцах крови обследуемых детей обнаружено содержание гексахлорбензола в диапазоне концентраций 0,0003 ± 0,0001 ÷ 0,0007 ± 0,0001 мг/дм³.

Выводы

1. Разработанная высокочувствительная и селективная газохроматографическая методика позволяет выполнять определение гексахлорбензола в крови в диапазоне концентраций 0,00015–0,005 мг/дм³ при погрешности не более 20%.

2. Высокая эффективность газохроматографического определения гексахлорбензола в образцах крови с пределом количественного определения на уровне 0,000024 мг/дм³ достигнута путём подбора оптимальных условий газохроматографического анализа: капиллярной колонки серии НР-1-35м · 0,32мм · 0,25мкм, температурного режима колонки, детектора электронного захвата, испарителя и расхода газа носителя.

3. Применение разработанного способа подготовки пробы крови к анализу, включающего жидкостную экстракцию то-

Таблица 3

Результаты отработки оптимальных параметров процесса экстракции гексахлорбензола из крови

Экстрагент	Концентрация, мкг/см ³		Полнота экстракции, %
	введено	обнаружено	
Органические растворители:			
гексан	0,008	0,0059 ± 0,002	73,8
толуол		0,00785 ± 0,0045	98,0
ацетон		0,00495 ± 0,0032	61,8
Объём растворителя (толуол), см³:			
3	0,008	0,00795	99,4
2		0,0025	32
1		0,0018	23
Время контакта фаз, мин:			
5	0,008	0,00795 ± 0,00051	99,5
10		0,0073 ± 0,00044	91,5
15		0,0078 ± 0,00049	97,5
Скорость центрифугирования, об/мин:			
5000	0,008	0,0069 ± 0,00042	86,3
6000		0,0075 ± 0,00065	93,8
7000		0,00799 ± 0,0053	99,9

луолом, денатурации белка центрифугированием биосреды при 7 000 об/мин в течение 15 мин при pH 6–7 в сочетании с газохроматографическим анализом и ДЭЗ позволило достичь высокую полноту извлечения гексахлорбензола из крови, которая составила 99,9%.

4. Выполненная метрологическая аттестация разработанной методики определения гексахлорбензола в крови позволила установить показатели качества результатов количественного химического анализа: показатель точности – 15,62%, показатель повторяемости – 3,45%, показатель внутрिलाбораторной прецизионности – 4,65%.

5. Проведённые скрининговые исследования образцов крови групп детского населения Пермского края позволили обнаружить концентрации гексахлорбензола в диапазоне $0,0003 \pm 0,0001 \div 0,0007 \pm 0,0001$ мкг/см³.

Методика может быть использована для практического применения научными учреждениями в области профпатологии и экологии человека.

Литература

(пп. 5, 7, 21, 23, 26–28 см. References)

1. Михеева А.Ю., Васильева И.А. Стойкие органические загрязнители в объектах окружающей среды. Методы определения. *Вопросы аналитического контроля качества вод: Материалы X научно-практического семинара*. С-Пб., 2005: 67–85.
2. Юдаев А.И. Полихлорированные бифенилы и диоксины- суперэкоксиканты XXI века. *Энергия: экономика, техника, экология*, 2010; 1: 60–5.
3. Новицкий В.Ф., Новицкая Т.В., Потоцкий А.В., Санитарно-химическая оценка гептахлорэпоксида в объектах окружающей среды. *Здоровье и окружающая среда*, 2011; 19: 435–40.
4. Поздняков С.П., Румак В.С., Софронов Г.А., Уманова Н.В. *Диоксины и здоровье человека*. С-Пб., 2006: 273.
6. Иваненко Н.В. *Экологическая токсикология*. Под редакцией Н.Г. Масляникова. М., 2006: 90.
8. Белясова Н.А. *Биохимия и молекулярная биология*. Минск: Книжный дом, 2004: 415.
9. Жеребцов Н.А., Попова Т.Н., Артюхов В.Г. *Биохимия*. Воронеж: Изд-во Воронежского государственного ун-та, 2002: 696.
10. Орлова О.И., Савельева Е.И., Радилев А.С. Применение биомониторинга для оценки характера и тяжести воздействия химического фактора. *Медицина труда и промышленная экология*, 2010; 12: 28–33.
11. Клоев Н.А., Курляндский Б.А., Ревич Б.А. и др. *Диоксины в России*. М.: ЮНЕП, 2001; 212.
12. Клюев Н.А., Бродский Е.С. *Полихлорированные бифенилы. Супертоксиканты XXI века*. Выпуск №5. М.: ВИНТИ, 2000: 31–63.
13. Сперанская О., Цитцер О. Стойкие органические загрязнители. Available at: http://www.ipen.org/ipeweb1/library/ipew_pdf_reports/4rus%20russia%20country%20situation%20report%20russian.pdf (дата обращения: 20.06.2018)
14. Михеева А.Ю. Унификация методов определения стойких органических загрязнителей. *Вопросы аналитического контроля качества вод: Материалы XIII научно-практического семинара*. М., 2008: 23.
15. Майстренко В.Н., Клоев Н.А. *Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей*. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004: 323.
16. Зайцева Н.В., Май И.В., Клейн С.В., Ханхареев С.С., Болوشيнова А.А. Научно-методические аспекты и практический опыт формирования доказательной базы причинения вреда здоровью населения в зоне влияния отходов прошлой экономической деятельности. *Гигиена и санитария*, 2017; 96 (11): 1038–44.
17. Другов Ю.С. *Экологическая аналитическая химия*. С-Пб., АНАТОЛИЯ, 2000: 432.
18. Горюнова С.М., Исмаилова Р.Н., Фаттахов И.Г. Оптимизация системы метрологического обеспечения лаборатории по оценке качества проводимых измерений. *Вестник Технологического университета*. 2017; 20 (8): 120–3.
19. Гармаш А.В., Сорокина Н.М. *Метрологические основы аналитической химии*. Издание 3-е исправленное и дополненное. Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2012: 47.
20. Сеньюва Х. З., Гилберт Д. *Простое руководство для пользователей по разработке и валидации методов*; перевод с англ. А.В. Галкин. М., 2011: 43.
22. Аладышева Ж.И., Спицкий О.Р. *Валидация аналитических методик для производителей лекарств*. Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств, подготовленное Федеральным Союзом Фармпроизводителей Германии (ВАН). Под ред. В.В. Береговых. М., Литерра, 2008; 70.
24. Михеева А.Ю., Васильева И.А., Семенов С.Ю., Сычев К.С. Применение многослойных колонок для проведения экспрессной адсорбционной очистки экстракта при определении хлорорганических пестицидов. *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2009; 9 (1): 95–104.
25. Другов Ю.С., Родин А.А. *Пробоподготовка в экологическом анализе*. С-Пб.: АНАТОЛИЯ, 2002: 755.
29. Карпов Ю.А., Савостин А.П. *Методы пробоотбора и пробоподготовки*. М.: Бином, 2003: 234.
30. Любач Н.В., Гринько А.П. Перечень методических указаний для определения пестицидов в различных объектах. *Журнал Хроматографического товарищества*. 2005; 3: 43–51.

References

1. Mikheeva A.Yu., Vasil'eva I.A. Stoykie organicheskie zagryazniteli v ob'ektakh okruzhayushchey sredy. Metody opredeleniya. *Voprosy analiticheskogo kontrolya kachestva vod: Materialy X nauchno-prakticheskogo seminaru*. St. Petersburg, 2005: 67–85 (in Russian).
2. Yudaev A.I. Polychlorinated biphenyls and dioxins as superecotoxicants of the XXI century [Polikhlorirovannye bifenily i dioksiny- superekotoksikanty XXI veka]. *Energiya: ekonomika, tekhnika, ekologiya*, 2010; 1: 60–5 (in Russian).
3. Novitsky V.F., Novitskaja T.V., Pototskiy A.V. Sanitary and chemical assessment of heptachlorepoxiide in the environment. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda*. 2011; 19: 435–40 (in Russian).
4. Pozdnyakov S.P., Rumak B.C., Sofronov G.A., Umanova N.V. *Dioxins and human health [Dioksiny i zdorov'e cheloveka]*. St. Petersburg, 2006: 273 (in Russian).
5. Regulation (EC) No 850/2004 of the European Parliament and of the council of 29 April 2004 on persistent organic pollutants and amending Directive 79/117/EEC. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:158:0007:0049:EN:PDF> (accessed: 20.05.2018)
6. Ivanenko N.V. *Ecological toxicology [Ekologicheskaya toksikologiya]*. Ed by N.G. Maslyannikov. Moscow, 2006: 90 (in Russian).
7. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks for Humans. Lyon, 1991; 52: 473.
8. Belyasova N.A. *Biochemistry and Molecular Biology [Biokhimiya i molekulyarnaya biologiya]*. Minsk: Knizhnyy dom, 2004: 415. (in Russian).
9. Zherebtsov N.A., Popova T.N., Artyukhov V.G. *Biochemistry [Biokhimiya]*. Voronezh: Izd-vo Voronezhskogo gosudarstvennogo un-ta, 2002: 696 (in Russian).
10. Orlova, O.I., Savelyeva, E.I., Radilov, A.S., Babakov, V.N., Voitenko. N.G. Biomonitoring usage to evaluate character and severity of exposure to chemical factor. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*, 2010; 12: 28–33 (in Russian).
11. Klyuev N.A., Kurlyandskiy B.A., Revich B.A. et al. *Dioxins in Russia [Dioksiny v Rossii]*. Moscow: YuNEP, 2001; 212 (in Russian).
12. Klyuev N.A., Brodskiy E.S. *Polychlorinated biphenyls. Superecotoxicants of the XXI century [Polikhlorirovannye bifenily. Supertoksikanty XXI veka]*. Vypusk №5. М.: VINITI, 2000: 31–63 (in Russian).
13. Speranskaya O., Tsitser O. Persistent Organic Pollutants [Stoykie organicheskie zagryazniteli]. Available at: http://www.ipen.org/ipeweb1/library/ipew_pdf_reports/4rus%20russia%20country%20situation%20report%20russian.pdf (accessed: 20.06.2018) (in Russian).
14. Mikheeva A.Yu. Unification of procedures for persistent organic pollutants determination [Unifikatsiya metodov opredeleniya stoykikh organicheskikh zagryazniteley]. *Voprosy analiticheskogo kontrolya kachestva vod: Materialy XIII nauchno-prakticheskogo seminaru*. М., 2008: 23 (in Russian).
15. Maystrenko V.N., Klyuev N.A. *Ecological and analytical monitoring over persistent organic pollutants [Ekologo-analiticheskiy monitoring stoykikh organicheskikh zagryazniteley]*. Moscow: BINOM. Laboratoriya znaniy, 2004: 323 (in Russian).
16. Zaitseva N.V., May Irina V., Kleyn S.V., Khankharev S.S., Boloshinova A.A. Scientific and methodological aspects and practical experience for the formation of the evidential base of hazard to health in the population in the zone of influence of waste from the past economic activity. *Gigiena i sanitariya*, 2017; 96 (11): 1038–44 (in Russian).

17. Drugov Yu.S. *Ecological analytical chemistry [Ekologicheskaya analiticheskaya khimiya]*. St. Petersburg, ANATOLIYA, 2000: 432. (in Russian).
18. Goryunova S.M., Ismailova R.N., Fattakhov I.G. Optimization of the metrological assurance system of the laboratory for assessing the quality of measurements. [Optimizatsiya sistemy metrologicheskogo obespecheniya laboratorii po otsenke kachestva provodimykh izmereniy]. *Vestnik Tekhnologicheskogo universiteta*. 2017; 20 (8): 120–3 (in Russian).
19. Garmash A.V., Sorokina N.M. *Metrological grounds for analytical chemistry. [Metrologicheskie osnovy analiticheskoy khimii]*. The 3rd edition, corrected and supplemented Moscow: Moskovskiy gos. Universitet imeni M.V. Lomonosova, 2012: 47 (in Russian).
20. Sen'yuva Kh. Z., Gilbert D. *A simple user guide on development and validation of procedures [Prostoie rukovodstvo dlya pol'zovateley po razrabotke i validatsii metodov]*. Moscow, 2011: 43 (in Russian).
21. Shah V.P., Midha K.K., Dighe S., McGilveray I.J., Skelly J.P., Yacobi A., Layloff T., Viswanathan C.T., Cook C.E., McDowall R.D., Pittman K.A., Spector S. Analytical methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. *Conference report. Pharm.Res.* 1992; 9: 588–592.
22. Aladysheva Zh.I., Spitskiy O.R. *Validation of analytical procedures for medication. A typical guide for a pharmaceutical enterprise developed by the Federal Council of Pharmaceutical Manufacturers in Germany [Validatsiya analiticheskikh metodik dlya proizvoditeley lekarstv]*. Ed. by V.V. Beregovykh. Moscow, Littera, 2008: 70 (in Russian).
23. Bioanalytical Method Validation 05/24/18. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM). May 2018 Biopharmaceutics. Available at: <https://www.yumpu.com/en/document/view/21736050/guidance-for-industry-bioanalytical-method-validation> (accessed: 23.05.2018).
24. Mikheeva A.Yu., Vasil'eva I.A., Semenov S.Yu., Sychev K.S. Application of multi-layer columns to perform express adsorption purification when determining organochlorine pesticides [Primenenie mnogoslonykh kolonok dlya provedeniya ekspressnoy adsorbtsionnoy oчитki ekstrakta pri opredelenii khlororganicheskikh pestitsidov]. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2009; 9 (1): 95–104 (in Russian).
25. Drugov Yu.S., Rodin A.A. *Sample preparation in environmental analysis [Probopodgotovka v ekologicheskom analize]*. St. Petersburg: ANATOLIYA, 2002: 755 (in Russian).
26. Sychoy C.S., Proskurina N.A., Davankov V.A., Mikheeva A.Yu. The Unique Selectivity of pi-Interactions for Solid-Phase Extraction. *LCGC Europe*, 2009; 22 (1): 20–7.
27. Hubert A., Wenzel K.D., Manz M. et al. High extraction efficiency for POPs in real contaminated soil samples using accelerated solvent extraction. *Analytical Chemistry*, 2000; 72 (6): 1294–3000.
28. Garcia-Rodriguez D., Carro-Diaz A.M., Lorenzo-Ferreira R.A. Supercritical fluid extraction of polyhalogenated pollutants from aquaculture and marine environmental samples. *Jour. of Sep. Science*, 2008; 31 (8): 1333–45. DOI: 10.1002/jssc.200700637
29. Karpov Yu.A., Savostin A.P. *Procedures for samples taking and preparation [Metody probootbora i probopodgotovki]*. Moscow: Binom, 2003: 234.
30. Lyubach N.V., Grin'ko A.P. A list of methodical guidelines on determination of pesticides in various objects [Perechen' metodicheskikh ukazaniy dlya opredeleniya pestitsidov v razlichnykh ob'ektakh]. *Zhurnal Khromatografichnogo tovaristva*, 2005; 3: 43–51.