

Алексеенко А.Н., Журба О.М., Меринов А.В., Шаяхметов С.Ф.

Определение содержания метаболитов полиароматических углеводородов в моче методом хроматографии с масс-селективным детектированием

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665827, Ангарск, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Полиароматические углеводороды (ПАУ) метаболизируются в гидроксильные производные, которые выводятся из организма человека с мочой. Газовая хроматография с масс-селективным детектированием – наиболее чувствительный и эффективный метод для разделения и последующего определения содержания гидроксильных ПАУ.

Материалы и методы. В исследовании использовали газовый хроматограф с масс-селективным детектором и капиллярной колонкой HP-5MS. Извлечение проводили с помощью дисперсионной жидкостно-жидкостной микропрекстракции, экстрагирующим растворителем служил хлороформ, а диспергирующим растворителем – этанол. Дериватизацию гидроксильных ПАУ выполняли в онлайн-режиме, одновременно вводя в испаритель хроматографа хлороформный экстракт и силицирующий реагент.

Результаты. Рассчитаны характеристики разделения гидроксильных ПАУ в виде триметилсиланов на капиллярной колонке: эффективность, коэффициент разделения, разрешение. Исследовано влияние температуры испарительного порта на сигнал детектора. Осуществлён подбор диспергирующего растворителя (этанола, ацетона, ацетонитрила, метанола) для изучения его влияния на степень экстракции. Максимальная степень экстракции отмечена при применении этанола. Исследованы закономерности изменения степени экстракции от объёма этанола и времени встряхивания. Оценены следующие метрологические характеристики: повторяемость, воспроизводимость, полнота извлечения, точность.

Ограничения исследования. Совершенствование методического подхода к измерению гидроксильных ПАУ в моче проведено без апробации метода на реальных биопробах работников, подвергающихся воздействию токсикантов в производственных условиях.

Заключение. В усовершенствованном методическом подходе к определению содержания гидроксильных ПАУ методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием использование дисперсионной жидкостно-жидкостной микропрекстракции вместо классической жидкостной экстракции ускорило пробоподготовку, исключило стадию упаривания экстракта. Степень экстракции составила 70–100%. Дериватизация реагентом силил-991 в испарительном порте обеспечила экспрессность реакции.

Ключевые слова: гидроксильные ПАУ; дериватизация силицированием; микропрекстракция

Соблюдение этических стандартов. Исследование не требует представления комитета по биомедицинской этике или иных документов.

Для цитирования: Алексеенко А.Н., Журба О.М., Меринов А.В., Шаяхметов С.Ф. Определение содержания метаболитов полиароматических углеводородов в моче методом хроматографии с масс-селективным детектированием. *Гигиена и санитария*. 2025; 104(9): 1209–1215. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-9-1209-1215>
<https://elibrary.ru/lulvja>

Для корреспонденции: Алексеенко Антон Николаевич, e-mail: alexeenko85@mail.ru

Участие авторов: Алексеенко А.Н. – концепция и дизайн исследования, поиск источников литературы, обработка данных, написание текста; Журба О.М. – сбор и обработка материала, лабораторные исследования; Меринов А.В. – сбор данных литературы, статистическая обработка, написание текста; Шаяхметов С.Ф. – организация исследования, редактирование, обсуждение результатов. **Все соавторы** – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех её частей.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках средств, выделяемых для выполнения государственного задания ФГБНУ ВСИМЭИ.

Поступила: 25.04.2025 / Поступила после доработки: 13.08.2025 / Принята к печати: 19.09.2025 / Опубликована: 20.10.2025

Anton N. Alekseenko, Olga M. Zhurba, Aleksey V. Merinov, Salim F. Shayahmetov

Determination of the content of metabolites of polyaromatic hydrocarbons in urine by chromatography with mass-selective detection

East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Polyromatic hydrocarbons (PAHs) are metabolized into hydroxyl derivatives, which are excreted from the human body in urine. Gas chromatography with mass-selective (GC-MS) detection is a more sensitive and efficient method for separation and subsequent measurement of hydroxyl PAHs.

Materials and methods. The study used a gas chromatograph with a mass-selective detector and a capillary column HP-5MS. Extraction was performed using dispersive liquid-liquid microextraction, where chloroform served as the extracting solvent, and ethanol as the dispersing solvent. Derivatization of hydroxyl PAHs was carried out online – simultaneously introducing chloroform extract and silylating reagent into the chromatograph injector.

Results. There were calculated characteristics of trimethylsilanes hydroxyl PAH separation on a capillary column as follows: efficiency, separation factor, resolution. The effect of the evaporation port temperature on the detector signal was studied. A dispersing solvent (ethanol, acetone, acetonitrile, methanol) was selected to study its effect on the degree of extraction. The maximum extraction degree is obtained when using ethanol. The patterns of the change in the extraction degree from the ethanol volume and shaking time were studied. The following metrological characteristics were estimated: repeatability, reproducibility, recovery, and accuracy.

Limitations. Improvement of the methodological approach to measuring hydroxyl PAHs in urine was carried out without testing the method on real samples of workers exposed to toxicants in industrial conditions.

Conclusion. In the improved methodical approach of GC-MS determination of hydroxyl PAHs, the use of dispersive liquid-liquid microextraction instead of classical liquid extraction accelerated sample preparation and eliminated the extract evaporation stage. The degree of extraction was 70–100%. Derivatization with the silyl-991 reagent in the evaporation port ensured the rapidity of the reaction.

Keywords: hydroxyl PAHs; derivatization by silylation; microextraction

Compliance with ethical standards. The study does not require submission of the Biomedical ethics committee or other documents.

For citation: Alekseenko A.N., Zhurba O.M., Merinov A.V., Shayakhmetov S.F. Determination of the content of metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine by chromatography with mass-selective detection. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2025; 104(9): 1209–1215. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-9-1209-1215> <https://elibrary.ru/lulvja> (In Russ.)

For correspondence: Alekseenko Anton Nikolaevich, e-mail: labchem99@gmail.com

Contribution: Alekseenko A.N. – concept and design of the study, search for literature sources, data processing, writing the text; Zhurba O.M. – collection and processing of material, laboratory research; Merinov A.V. – collection of literature data, statistical processing, writing the text; Shayakhmetov S.F. – organization of the study, editing, discussion of results. **All co-authors** – approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

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

Funding. The work was performed within the framework of funds allocated for the implementation of the state task East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research.

Received: April 25, 2025 / Revised: August 13, 2025 / Accepted: September 19, 2025 / Published: October 20, 2025

Введение

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) в процессе метаболизма биотрансформируются в гидроксильные производные [1, 2]. Измерение содержания гидроксильных ПАУ в моче проводят следующими методами: высокоэффективная жидкостная хроматография с флуориметрическим детектированием (ВЭЖХ-ФД), газовая хроматография с масс-селективным детектированием (ГХ-МС). Последний является более селективным, чувствительным и эффективным для разделения и последующего определения содержания гидроксильных ПАУ [3–6]. При измерении содержания гидроксильных метаболитов ПАУ методом ГХ-МС необходима дериватизация в менее полярные и более летучие соединения.

Для дериватизации гидроксильных ПАУ чаще всего используют силилирование, которое имеет следующие особенности: строго безводные условия, так как реагент, дериваты склонны к гидролизу; продолжительность реакции от 30 до 60 мин; повышенная температура (не менее плюс 60 °C).

В последние годы получило распространение силилирование в разогретом испарителе газового хроматографа за счёт реакции в газовой фазе между дериватизирующим реагентом и анализом [7, 8]. Это снижает возможность разложения производных и уменьшает воздействие на окружающую среду. Дополнительное экспериментальное оборудование (нагревательный блок и реакционные флаконы) не требуется, поскольку реагент и анализ вводятся одновременно внутрь испарительного порта ГХ или ГХ-МС. Кроме того, минимальны объёмы силилирующего реагента и экстракта образца. Дериватизация в испарительном порте гораздо эффективнее в сравнении с дериватизацией во фланге (автономном режиме), что снижает пределы измерения и повышает точность метода.

Для извлечения метаболитов ПАУ из биологических и водно-солевых матриц применяют жидкостно-жидкостную экстракцию (ЖЖЭ), твердофазную микроэкстракцию (ТФМЭ) и дисперсионную жидкостно-жидкостную микроэкстракцию [8–12].

Методический подход с жидкостно-жидкостной экстракцией в ГХ-МС-определении гидроксильных ПАУ основан на извлечении гексаном с последующим концентрированием экстракта в потоке азота и силилировании в сухом остатке *N,O*-бистриметилсилитрифторметилом (БСТФА) в течение 45 мин [13]. В данном методическом подходе экстракция и дериватизация продолжительны по времени, а в процессе упаривания экстракта существует вероятность потери 2-, 3-ядерных гидроксильных ПАУ. В методическом походе с применением ТФМЭ требуется длительное время выдержки волокна (от 45 мин до 12 ч), что делает его неэффективным для рутинного анализа [14]. Дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция

(ДЖЖМЭ) является экономным, быстрым и простым способом извлечения [15–22].

Методический подход с ДЖЖМЭ при ГХ-МС-измерении гидроксильных ПАУ в донных отложениях основан на ускоренной экстракции из твёрдой матрицы смесью воды с ацетонитрилом в течение 10 мин и последующей дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции хлорбензолом (100 мкл) из водно-ацетонитрильной смеси, концентрировании экстракта до сухого остатка упариванием, силилировании в сухом остатке метил(трет-бутил)диметилсилитрифторметилом (МТБСТФА) в течение 1 ч при температуре плюс 60 °C [23]. Данный подход имеет недостатки, к которым можно отнести возможность потери лёгких анализов в процессе концентрирования экстракта, длительность дериватизации (60 мин) и ГХ-МС-анализа (48 мин). Изучение существующих методических подходов к измерению гидроксильных ПАУ в моче показало широкое применение длительного автономного силилирования и редкое использование ДЖЖМЭ.

Цель настоящего исследования – совершенствование методического подхода ГХ-МС-определения содержания гидроксильных ПАУ (2-гидроксиафталина, 2-гидроксифлуорена, 9-гидроксифенантрена, 3-гидроксифенантрена, 2-гидроксифенантрена, 1-гидроксипирена, 6-гидроксихризена) в моче за счёт сочетания дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции и дериватизации силилирующим агентом силил-991 (смесь 99% *N,O*-бистриметилсилитрифторметилом и 1% триметилхлорсилана) в испарительном порте.

Материалы и методы

Оборудование. В работе использовали следующее оборудование: газовый хроматограф с масс-селективным детектором Agilent 5975C, оснащённым жидкостным автосamplerом Agilent 7693 и капиллярной колонкой HP-5MS (30 м × 0.25 мм, 0,25 мкм); центрифугу Eppendorf 5804.

Стандартные образцы и реагенты. Использовали следующие стандартные образцы: 2-гидроксиафталин (99,8%, Fluka, Швейцария), 2-гидроксифлуорен (98%, Aldrich, США), 9-гидроксифенантрен (98,2%, Aldrich, США), 3-гидроксифенантрен (99,5%, Dr. Ehrenstorfer, Германия), 2-гидроксифенантрен (94%, Dr. Ehrenstorfer, Германия), 1-гидроксипирен (98,2%, Aldrich, США), 6-гидроксихризен (99,8%, Dr. Ehrenstorfer, Германия). В качестве реагентов применяли ацетонитрил (Криохром, Россия), 0,1 М соляную кислоту, дистиллированную воду, этанол (96%), ацетон (Экрос, Россия), метанол, хлороформ перегнанный х. ч. (Экрос, Россия), силилирующий реагент силил-991 (99% *N,O*-бистриметилсилитрифторметилом с 1% триметилхлорсилана). Также использовали образцы мочи Seronorm для приготовления стандартных растворов гидроксильных ПАУ.

Приготовление стандартных растворов. Исходный раствор гидроксильных ПАУ (100 мкг/мл) готовили растворением точной навески каждого стандартного образца в ацетонитриле. Разбавлением исходного раствора гидроксильных ПАУ ацетонитрилом получали растворы следующих концентраций: 40; 20; 10; 5; 2; 0,5 мкг/мл. Растворы гидроксильных ПАУ в моче (25 мл) с концентрациями 40; 20; 10; 5; 2; 0,5 нг/мл готовили добавлением в мочу 25 мкл растворов гидроксильных ПАУ в ацетонитриле с концентрациями 40; 20; 10; 5; 2; 0,5 мкг/мл.

Методика эксперимента. Во флакон вместимостью 5 мл с острым коническим дном вносили пробу мочи (2 мл), 2 мл 0,1 М соляной кислоты, 100–500 мкл этилового спирта, 100 мкл хлороформа; вручную встряхивали в течение 5–25 с для образования эмульсии; центрифугировали при 5000 об./мин в течение 10 мин; переносили нижний (хлороформный) слой во флакон объёмом 250 мкл и автоматически вводили микрошиприцем в испарительный порт хроматографа трёхфазную систему (1 мкл реагента силил-991, 0,2 мкл воздуха и 1 мкл хлороформного экстракта) для последующего ГХ-МС-анализа. ГХ-МС-анализ осуществляли в капиллярной колонке HP-5MS (30 м × 0,25 мм, 0,25 мкм) в следующих условиях: температура испарителя плюс 300 °C; режим ввода образца без деления потока 0,7 мин; поток газа-носителя в колонке 1,2 мл/мин; режим термостата колонки: выдержка при температуре плюс 100 °C в течение 2 мин, подъём со скоростью 20 °C/мин до температуры плюс 280 °C, выдержка в течение 8 мин, температура интерфейса плюс 290 °C, ионного источника – плюс 230 °C, квадруполя – плюс 150 °C; задержка включения нити накала 7 мин. Сбор хромато-масс-спектральной информации осуществляли в режиме селективного ионного мониторинга количественных ионов (m/z 216, 254, 266, 290, 316) и подтверждающих ионов (m/z 201, 239, 251, 275, 301).

Идентификацию проводили по времени удерживания, количественным и подтверждающим ионам. Для расчёта содержания гидроксильных ПАУ предлагаемым способом использовали абсолютную градуировку по стандартным растворам гидроксильных ПАУ в моче в диапазоне от 0,5 до 40 нг/мл.

Результаты

Хроматограмма стандартного раствора гидроксильных ПАУ представлена на рис. 1.

По данным времени удерживания (t_R) и ширины пиков (w_b) провели расчёт основных хроматографических характеристик – эффективности разделения (N), коэффициента разделения (a), разрешения (R_s) (табл. 1).

Дериватизация реагентом силил-991 в порте испарителя. Поскольку дериватизация осуществляется внутри испарительного порта газового хроматографа, температуру испарителя можно рассматривать как температуру реакции анализов с реагентом силил-991. Влияние температуры

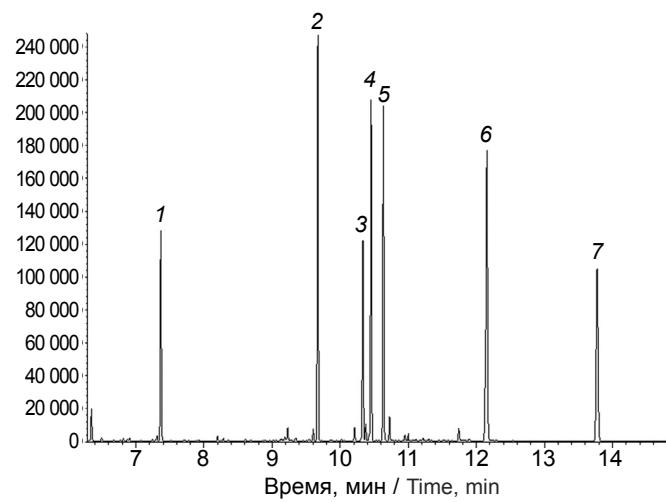


Рис. 1. Хроматограмма стандартного раствора гидроксильных ПАУ в моче (тритметилсиланы гидроксильных ПАУ).

Fig. 1. Chromatogram of the standard solution of hydroxyl PAHs in urine (trimethylsilanes of hydroxyl PAHs).

испарительного порта на эффективность дериватизации в виде зависимостей площадей пиков от температуры испарителя исследовали в интервале плюс 150–370 °C (табл. 2).

В дисперсионной жидкостно-жидкостной микрэкстракции роль диспергирующего растворителя заключается в диспергировании экстрагента в водной фазе в виде мелких капель, то есть в образовании трёхкомпонентной эмульсии: проба + экстрагент + диспергирующий растворитель. При образовании эмульсии контакт между водной фазой и экстрагентом значительно возрастает, что помогает быстро достичь равновесия, повысить степень экстракции и сократить её продолжительность. Выбор эффективного диспергирующего растворителя осуществляли, изучая зависимость степени экстракции R от диспергирующего растворителя (ацетонитрил, ацетон, метанол и этанол) (рис. 2). Степень экстракции рассчитывали как отношение экспериментально измеренной массы аналита в экстракте к массе аналита, ведённого в образец мочи.

Таблица 1 / Table 1

Хроматографические и масс-спектральные характеристики разделения триметилсиланов гидроксильных ПАУ на капиллярной колонке HP-5MS

Chromatographic and mass-spectral characteristics of the separation of trimethylsilanes of hydroxyl PAHs on a capillary column HP-5MS

Вещество Compound	t_R , мин min	m/z	w_b , мин min	N , т. т. t. p.	a	R_s
2-ОН-нафталин 2-OH-naphthalene	7.365	216	0.068	187 693	1.31	36.0
2-ОН-флуорен 2-OH-fluorene	9.672	254	0.06	415 767		
9-ОН-фенантрен 9-OH-phenanthrene	10.335	266	0.046	807 654	1.07	12.5
3-ОН-фенантрен 3-OH-phenanthrene	10.455	266	0.05	699 565	1.01	2.5
2-ОН-фенантрен 2-OH-phenanthrene	10.635	266	0.07	369 317	1.02	3.0
1-ОН-пирен 1-OH-pyrene	12.156	290	0.136	127 827	1.14	14.8
6-ОН-хризен 6-OH-chrysene	13.775	316	0.129	182 442	1.13	12.2

Таблица 2 / Table 2

Влияние температуры испарителя на дериватизацию гидроксильных ПАУ реагентом силил-991

The impact of injector temperature on derivatization of hydroxyl PAHs with silyl-991 reagent

$T_{\text{инж}}$, °C $T_{\text{инж}}$, °C	Площадь пиков / Areas Peaks						
	2-гидроксинафталин 2-hydroxynaphthalene	2-гидроксифлуорен 2-hydroxyfluorene	9-гидроксифенантрен 9-hydroxyphenanthrene	3-гидроксифенантрен 3-hydroxyphenanthrene	2-гидроксифенантрен 2-hydroxyphenanthrene	1-гидроксипирен 1-hydroxyperylene	6-гидроксихризен 6-hydroxychrysene
150	1685	103	0	0	0	0	0
200	3559	2366	1509	1526	1259	555	106
250	3667	3381	2692	3195	3124	2232	1500
300	3750	3405	2821	3511	3610	3739	3238
350	3745	3403	2839	3551	3694	3778	3240
370	3702	3406	2833	3592	3730	3729	3245

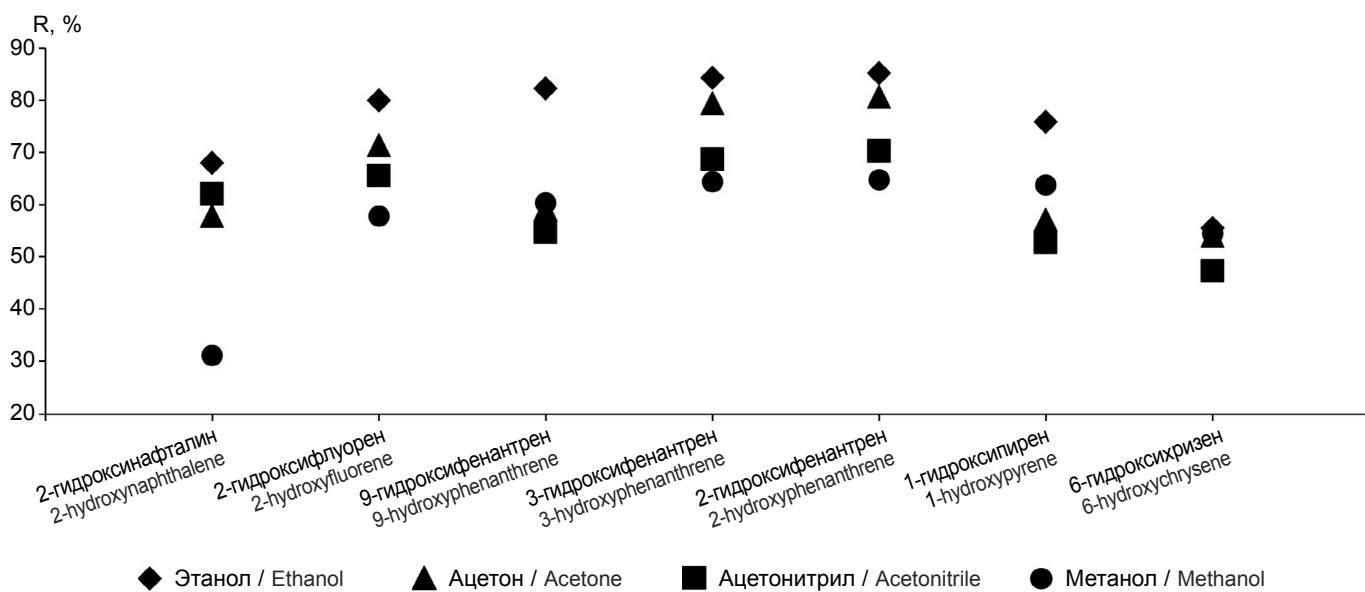


Рис. 2. Влияние диспергирующего растворителя на степень экстракции R.

Fig. 2. Effect of dispersing solvent on the recovery of extraction.

Таблица 3 / Table 3

Закономерность изменения степени экстракции (R) гидроксильных ПАУ от объёма этанола и времени встряхивания

The pattern of changes in the recovery of extraction (R) of hydroxyl PAHs from the volume of ethanol and shaking time

Объём этанола, мкл Volume of ethanol, μl	Время встряхивания, с Shaking time, s	Степень экстракции, % / Recovery of extraction, %						
		2-ОН-Нафт 2-OH-Naph	2-ОН-Флу 2-OH-Flu	9-ОН-Фен 9-OH-Phe	3-ОН-Фен 3-OH-Phe	2-ОН-Фен 2-OH-Phe	1-ОН-Пир 1-OH-Pyr	6-ОН-Хри 6-OH-Chr
100	5	44.6	54.6	58.0	59.4	58.9	59.7	54.5
150	5	46.1	57.6	62.4	64.0	64.1	63.9	57.0
200	5	47.7	60.7	66.8	68.5	69.3	68.1	59.5
250	5	49.2	63.7	71.1	73.0	74.5	72.3	61.9
300	5	50.7	66.7	75.5	77.5	79.7	76.5	64.4
300	10	56.5	77.7	83.1	91.6	92.2	83.4	65.9
300	15	62.3	88.7	90.7	105.6	104.7	90.2	67.3
300	20	68.1	99.7	98.3	119.7	117.2	97.1	68.8
300	25	73.9	110.7	105.9	133.7	129.7	103.9	70.2

Таблица 4 / Table 4

Результаты оценки полноты извлечения гидроксильных ПАУ в моче методом ГХ-МС

Results of evaluation of completeness of the recovery of hydroxyl PAHs in urine by GC-MS

Аналит Analyt	C_b , нг/мл C_b , ng/ml	$C_{\text{опр}}$, нг/мл C_m , ng/ml	Полнота извлечения, % Recovery, % $n = 5$	
			Recovery, %	$n = 5$
2-гидроксинафталин / 2-hydroxynaphthalene	0.5	0.55	109	
	10	10.8	108	
	40	37.4	93	
2-гидроксифлуорен / 2-hydroxyfluorene	0.5	0.48	96	
	10	9.5	95	
	40	38	95	
9-гидроксифенантрен / 9-hydroxyphenanthrene	0.5	0.64	129	
	10	9.3	93	
	40	37	92	
3-гидроксифенантрен / 3-hydroxyphenanthrene	0.5	0.44	88	
	10	9.6	96	
	40	37.8	95	
2-гидроксифенантрен / 2-hydroxyphenanthrene	0.5	0.52	105	
	10	9.5	95	
	40	37.9	95	
1-гидроксипирен / -hydroxypyrene	0.5	0.49	98	
	10	9.7	97	
	40	39.2	98	
6-гидроксихризен / 6-hydroxychrysene	0.5	0.53	106	
	10	9.7	97	
	40	37	92	

Таблица 5 / Table 5

Метрологические характеристики методического похода к измерению содержания гидроксильных ПАУ в моче методом ГХ-МС
Metrological characteristics of the methodical approach to measuring the content of hydroxyl PAHs in urine by GC-MS

Аналит Analyt	Диапазон, нг/мл Range, ng/ml	СКО повторяемости, % Standard deviation (SD) of repeatability, %	СКО воспроизводимости, % SD of- reproducibility, %	Точность, % Accuracy, %
2-гидроксинафталин / 2-hydroxynaphthalene	0.5–40	2.6	3.6	20
2-гидроксифлуорен / 2-hydroxyfluorene	0.5–40	3.3	4.6	25
9-гидроксифенантрен / 9-hydroxyphenanthrene	0.5–40	6.3	8.8	25
3-гидроксифенантрен / 3-hydroxyphenanthrene	0.5–40	5.5	7.7	30
2-гидроксифенантрен / 2-hydroxyphenanthrene	0.5–40	6.9	9.7	25
1-гидроксипирен / -hydroxypyrene	0.5–40	2.6	3.7	15
6-гидроксихризен / 6-hydroxychrysene	0.5–40	5.2	7.3	25

Поскольку на степень экстракции (R) в ДЖЖМЭ влияют объём диспергирующего растворителя этанола и время встряхивания, нами были исследованы закономерности изменения степени экстракции от объёма этанола и времени встряхивания (табл. 3).

Провели оценку следующих метрологических характеристик: повторяемость, воспроизводимость, правильность, точность. Применили образцы мочи с ведёнными гидроксильными ПАУ в концентрациях 0,5, 10 и 40 нг/мл, каждый образец анализировали пять раз. Рассчитали полноту извлечения как отношение определённого содержания аналита в моче ($C_{\text{опр}}$) к введённому значению (C_b) (табл. 4).

По полученным экспериментальным данным рассчитали показатель повторяемости в виде относительного среднеквадратического отклонения (табл. 5). Расчётыным способом установили показатель воспроизводимости; показатель точности (границы относительной погрешности) рассчитали суммированием составляющих погрешностей приготовления стандартных растворов, построением градиуровочного

графика газового хроматографа с масс-селективным детектированием по рекомендациям РМГ 76–2014 (см. табл. 5).

Обсуждение

В хроматограмме стандартного раствора гидроксильных ПАУ пики острые и симметричные, коэффициент разделения (a) для изомеров 9-гидроксифенантрена 3-гидроксифенантрена, 2-гидроксифенантрена выше 1, разрешение (R_s) не менее 2,5. В процессе дериватизации гидроксильных ПАУ в испарительном порте выявлено, что в интервале температур плюс 150–300 °C сигналы возрастают, при температуре выше плюс 300 °C не наблюдается значительного роста сигналов. Для двухъядерных гидроксильных ПАУ сигналы можно наблюдать при температуре плюс 150 °C и выше, для более тяжёлых 3,4-ядерных гидроксильных ПАУ – начиная с температуры плюс 200 °C. С увеличением молекулярной массы соединения требуется более высокая температура. В качестве оптимальной температуры испарительного

порта при дериватизации гидроксильных ПАУ реагентом силил-991 выбрано значение плюс 300 °С.

В дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции для извлечения из проб мочи лучшим диспергирующим растворителем оказался этанол, обеспечивающий степень экстракции 76–85% для всех анализаторов, кроме 2-гидроксиафталина ($R = 70\%$) и 6-гидроксихризена ($R = 55\%$). Несмотря на более низкие значения степеней экстракции у 2-гидроксиафталина и 6-гидроксихризена, использование этанола как диспергирующего растворителя позволяет получить лучшие показатели в сравнении с метанолом, ацетоном и ацетонитрилом.

При изучении зависимости изменения степени экстракции от объема этанола и времени встряхивания установлено, что максимальные значения степеней экстракции получаются при объеме этанола 300 мкл и времени встряхивания 25 с.

Оценка полноты извлечения гидроксильных ПАУ показала, что результаты анализа не имеют значимых систематических погрешностей (средняя полнота извлечения не менее 80%). Точность в виде границ относительной погрешности не превышает 30%.

Заключение

Для простого и быстрого ГХ-МС-измерения гидроксильных ПАУ в моче применили комбинацию ДЖЖМЭ с дериватизацией в испарительном порте. ДЖЖМЭ вместо классической жидкостной экстракции с упариванием экстракта упростило и ускорило пробоподготовку и обеспечило извлечение 70–100% анализаторов. Благодаря дериватизации реагентом силил-991 в испарительном порте удалось исключить стадию упаривания экстракта и обеспечить экспрессность дериватизации.

Литература

(п.п. 1–21, 23 см. References)

22. Дмитриенко С.Г., Апяри В.В., Толмачёва В.В., Горбунова М.В. Дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция органических соединений. Обзор обзоров. *Журнал аналитической химии*. 2020; 75(10): 867–84. <https://doi.org/10.31857/S0044450220100059> <https://elibrary.ru/gappgg>

References

- Hemminki K., Dickey C., Karlsson S., Bell D., Hsu Y., Tsai W.Y., et al. Aromatic DNA adducts in foundry workers in relation to exposure, life style and CYP1A1 and glutathione transferase M1 genotype. *Carcinogenesis*. 1997; 18(2): 345–50. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.4.849>
- Shaw G.R., Connell D.W. Prediction and monitoring of the carcinogenicity of polycyclic aromatic compounds (PACs). *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 1994; 135: 1–62. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2634-5_1
- Jongeneelen F.J., Anzion R.B.M., Henderson P.T. Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine. *J. Chromatogr.* 1987; 413: 227–32. [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(87\)80230-X](https://doi.org/10.1016/0378-4347(87)80230-X)
- Bentsen-Farman R.K., Botnen I.V., Noto H., Jacob J., Ovrebo S. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites by high-pressure liquid chromatography after purification on immunoaffinity columns in urine from occupationally exposed workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 1999; 72(3): 161–8. <https://doi.org/10.1007/s004200050355>
- Carmella S.G., Le K.A., Hecht S.S. Improved method for determination of 1-hydroxyxyprene in human urine. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2004; 13(7): 1261–4.
- Santos F.J., Galceran M.T. Modern developments in gas chromatography-mass spectrometry-based environmental analysis. *J. Chromatogr. A*. 2003; 1000(1–2): 125–51. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(03\)00305-4](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(03)00305-4)
- Djatmika R., Ding W.H. Optimization of silylation for parabens determination by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*. 2016; 5(2): 55–62. <https://doi.org/10.18860/al.v5i2.3743>
- Wang Q., Ma L., Yin C.R., Xu L. Developments in injection port derivatization. *J. Chromatogr. A*. 2013; 1296: 25–35. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.04.036>
- Shin H.S., Lim H.H. Simultaneous determination of 2-naphthol and 1-hydroxy pyrene in urine by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2011; 879(7–8): 489–94. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.01.009>
- Smith C.J., Huang W., Walcott C.J., Turner W., Grainger J., Patterson D.G. Jr. Quantification of monohydroxy-PAH metabolites in urine by solid-phase extraction with isotope dilution-GC-MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 2002; 372(1): 216–20. <https://doi.org/10.1007/s00216-001-1123-8>
- Wang Y., Zhang W., Dong Y., Fan R., Sheng G., Fu J. Quantification of several monohydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 2005; 383(5): 804–9. <https://doi.org/10.1007/s00216-005-0066-x>
- Li Z., Romanoff L.C., Trinidad D.A., Hussain N., Jones R.S., Porter E.N., et al. Measurement of urinary monohydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons using automated liquid-liquid extraction and gas chromatography/isotope dilution high-resolution mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2006; 78(16): 5744–51. <https://doi.org/10.1021/ac0606094>
- Campo L., Rossella F., Fustinoni S. Development of a gas chromatography/mass spectrometry method to quantify several urinary monohydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment samples by combining subcritical water extraction and dispersive liquid-liquid microextraction with derivatization. *Anal. Chim. Acta*. 2012; 753: 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.09.028>
- metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in occupationally exposed subjects. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2008; 875(2): 531–40. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.10.017>
- Luan T., Fang S., Zhong Y., Lin L., Chan S.M., Lan C., et al. Determination of hydroxy metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons by fully automated solid-phase microextraction derivatization and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 2007; 1173(1–2): 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.10.038>
- Rezaee M., Assadi Y., Milani Hosseini M.R., Aghaei E., Ahmad F., Berijani S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *J. Chromatogr. A*. 2006; 1116(1–2): 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.007>
- Rezaee M., Yamini Y., Faraji M. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method. *J. Chromatogr. A*. 2010; 1217(16): 2342–57. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.088>
- Nuhu A.A., Basheer C., Saad B. Liquid-phase and dispersive liquid-liquid microextraction techniques with derivatization: recent applications in bioanalysis. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2011; 879(17–18): 1180–8. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.02.009>
- Benedé J.L., Chisvert A., Salvador A., Sánchez-Quiles D., Tovar-Sánchez A. Determination of UV filters in both soluble and particulate fractions of seawaters by dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*. 2014; 812: 50–8. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.12.033>
- Camponi L., Piccinelli A.L., Pagano I., Carabetta S., Di Sanzo R., Russo M., et al. Determination of phenolic compounds in honey using dispersive liquid-liquid microextraction. *J. Chromatogr. A*. 2014; 1334: 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.01.081>
- Cortada C., dos Reis L.C., Vidal L., Llorca J., Canals A. Determination of cyclic and linear siloxanes in wastewater samples by ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta*. 2014; 120: 191–7. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.11.042>
- Tseng W.C., Chen P.S., Huang S.D. Optimization of two different dispersive liquid-liquid microextraction methods followed by gas chromatography-mass spectrometry determination for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) analysis in water. *Talanta*. 2014; 120: 425–32. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.11.073>
- Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Tolmacheva V.V., Gorbunova M.V. Dispersive liquid-liquid microextraction of organic compounds: an overview of reviews. *Journal of Analytical Chemistry*. 2020; 75(10): 1237–51. <https://doi.org/10.1134/S1061934820100056>
- Wang X., Lin L., Luan T., Yang L., Tam N.F. Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment samples by combining subcritical water extraction and dispersive liquid-liquid microextraction with derivatization. *Anal. Chim. Acta*. 2012; 753: 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.09.028>

Сведения об авторах

Алексеенко Антон Николаевич, канд. хим. наук, ст. науч. сотр. ФГБНУ ВСИМЭИ, 665827, Ангарск, Россия. E-mail: alexeenko85@mail.ru

Журба Ольга Михайловна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр., зав. лаб. аналитической экотоксикологии и биомониторинга ФГБНУ ВСИМЭИ, 665827, Ангарск, Россия. E-mail: zhurba99@gmail.com

Меринов Алексей Владимирович, канд. биол. наук, науч. сотр. ФГБНУ ВСИМЭИ, 665827, Ангарск, Россия. E-mail: alek-merinov@mail.ru

Шаяхметов Салим Файзыевич, доктор мед. наук, профессор, вед. науч. сотр. ФГБНУ ВСИМЭИ, 665827, Ангарск, Россия. E-mail: salimf53@mail.ru

Information about the authors

Anton N. Alekseenko, PhD (Chemistry), senior researcher, East Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-4980-5304> E-mail: alexeenko85@mail.ru

Olga M. Zhurba, DSc (Biology), leading researcher, head, Laboratory of analytical ecotoxicology and biomonitoring, East Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-9961-6408> E-mail: zhurba99@gmail.com

Aleksey V. Merinov, PhD (Biology), researcher, East Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-7848-6432> E-mail: alek-merinov@mail.ru

Salim F. Shayahmetov, DSc (Medicine), professor, leading researcher, East Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-8740-3133> E-mail: salimf53@mail.ru