



Уланова Т.С., Карнажицкая Т.Д., Старчикова М.О.

Количественное определение фенола и пирокатехина в цельной крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

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

Введение. Фенол и его производные широко распространены в окружающей среде. Для оценки риска негативного влияния фенолов на здоровье человека необходима оценка их содержания в биологических средах.

Цель исследования — количественное определение фенола и пирокатехина в цельной крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Материалы и методы. Исследования проведены на жидкостном хроматографе Shimadzu с флуориметрическим детектором RF-20A. Эффективность извлечения аналитов из матрицы проверяли способами жидкостной и твердофазной экстракции, QuEChERS. Экспериментально установлены метрологические показатели методики измерения. Аprobация методики измерения проведена в ходе анализа образцов цельной крови, отобранной у детей, проживающих на территориях с различной техногенной нагрузкой.

Результаты. Проведены исследования по определению фенола и пирокатехина в цельной крови у детей в диапазоне 0,005–0,5 мг/дм³ с погрешностью не более 33%. Степень извлечения фенола из цельной крови методом QuEChERS — 100%, пирокатехина — 75%. Установлено достоверно более высокое ($p \leq 0,05$) среднегрупповое содержание фенола и пирокатехина в пробах цельной крови у детей, проживающих на экологически нагруженной территории, по сравнению с условно чистой территорией: в 2,3 и 2,1 раза соответственно.

Ограничения исследования. Исследование содержания фенола и пирокатехина в цельной крови у детского населения ограничено территориями наблюдения и числом обследованных детей. Для установления фонового содержания фенола и пирокатехина в цельной крови детского населения на популяционном уровне в условиях экологической нагрузки и вне зоны антропогенного влияния необходимо проведение более широких исследований на различных территориях с охватом большего числа обследуемых детей.

Заключение. Методика может быть использована в гигиенических исследованиях для оценки риска экспозиции фенолов на здоровье населения, проживающего на территориях с различной антропогенной нагрузкой.

Ключевые слова: фенол; пирокатехин; цельная кровь; детское население; высокоэффективная жидкостная хроматография

Соблюдение этических стандартов. Медико-биологические исследования одобрены локальным этическим комитетом при ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (выписка из протокола № 2 от 17 февраля 2014 г.). Исследования проведены в соответствии с принципами Хельсинкской декларации (1975 г. с доп. 1983 г.) и Национального стандарта Российской Федерации ГОСТ Р 52379–2005 «Надлежащая клиническая практика» (ICH E6 GCP) при наличии письменного информированного добровольного согласия законных представителей детей.

Для цитирования: Уланова Т.С., Карнажицкая Т.Д., Старчикова М.О. Количественное определение фенола и пирокатехина в цельной крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(5): 516–522. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-5-516-522> <https://elibrary.ru/sbmuws>

Для корреспонденции: Карнажицкая Татьяна Дмитриевна, канд. биол. наук, зав. лаб. методов жидкостной хроматографии ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 614045, Пермь. E-mail: tdkam@fcrisk.ru

Участие авторов: Уланова Т.С. — концепция и дизайн исследования, редактирование; Карнажицкая Т.Д. — написание текста, сбор и статистическая обработка материала; Старчикова М.О. — написание текста, статистическая обработка материала. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

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

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 07.04.2023 / Принята к печати: 31.05.2023 / Опубликована: 20.06.2023

Tatiana S. Ulanova, Tatiana D. Karnazhitskaya, Maria O. Starchikova

Quantitative determination of phenol and pyrocatechol in the whole blood by high performance liquid chromatography

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

Introduction. Phenol and its derivatives are widely distributed in the environment. To assess the risk of the negative impact of phenols on human health, data on their content in biological media are needed.

Purpose of research. Development of a sensitive and selective method for the determination of phenol and catechol in the whole blood by HPLC.

Materials and methods. The studies were carried out on a Shimadzu liquid chromatograph with an RF-20A fluorimetric detector. The efficiency of extraction of analytes from the matrix was checked by methods of liquid and solid phase extraction, QuEChERS. The metrological parameters of the measurement technique were experimentally established. Approval of the method was carried out during the analysis of whole blood in children living in territories with various technogenic impacts.

Results. The developed method makes it possible to determine phenol and catechol in whole blood at the level of 0.005–0.5 mg/dm³ with an error of $\leq 33\%$. The degree of extraction of phenol from whole blood by the QuEChERS method is 100%, pyrocatechol — 75%. A significantly higher ($p \leq 0,05$) average group content of phenol and pyrocatechol was established in the whole blood of children living in an ecologically loaded area compared to a conditionally clean area by 2.1 times.

Limitations. The study of the content of phenol and pyrocatechol in the whole blood in the child population is limited by the number of territories and examined children. To establish the background content of phenol and catechol in the whole blood of the child population at the population level under conditions of environmental stress and outside the zone of anthropogenic influence, it is necessary to conduct more extensive studies in various territories covering a larger number of examined children.

Original article

Conclusion. The developed method can be used in hygienic research to assess the risk of phenols exposure to the health of the child population living in areas with various anthropogenic pressure.

Keywords: phenol; pyrocatechol; biological media (blood); child population; high performance liquid chromatography

Compliance with ethical standards. The biomedical research was approved by the local ethics committee at the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies (excerpt from Protocol No. 2 dated February 17, 2014). The studies were carried out in accordance with the ethical principles of the Declaration of Helsinki (1975, as amended in 1983) and the National Standard of the Russian Federation GOST-R 52379-2005 "Good Clinical Practice" (ICH E6 GCP) with written informed voluntary consent from the legal representatives of the children.

For citation: Ulanova T.S., Karnazhitskaya T.D., Starchikova M.O. Quantitative determination of phenol and pyrocatechol in the whole blood by high performance liquid chromatography. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(5): 516–522. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-5-516-522> <https://elibrary.ru/sbmuws> (In Russ.)

For correspondence: Tatyana D. Karnazhitskaya, MD, PhD, Head of Liquid Chromatography Laboratory at the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation. E-mail: tdkarn@fcrisk.ru

Information about authors:

Ulanova T.S., <https://orcid.org/0000-0002-9238-5598>
Starchikova M.O., <https://orcid.org/0000-0002-3259-1509>

Karnazhitskaya T.D., <https://orcid.org/0000-0001-6768-0045>

Contribution: Ulanova T.S. – concept and design of the study, editing, approval of the final version of the article; Karnazhickaja T.D. – writing text, collection and statistical processing of material; Starchikova M.O. – writing text, statistical processing of material. 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.

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Received: April 7, 2023 / Accepted: May 31, 2023 / Published: June 20, 2023

Введение

К числу наиболее распространённых опасных химических соединений окружающей среды относятся фенол и его производные [1]. Активными источниками поступления фенола в атмосферный воздух являются переработка каменного угля и нефти, нефтедобыча, коксохимия, металлургия, деревообработка, производство красок и кабельных изделий, а также табачный дым и выхлопные газы автотранспорта [2–6]. В поверхностные воды фенол и его производные поступают со стоками коксохимической и нефтехимической промышленности, органического синтеза, деревообрабатывающего, целлюлозного и других производств [7]. В фармацевтике фенол используется в качестве антисептика и входит в состав некоторых иммунобиологических лекарственных препаратов [8, 9]. В воздух помещений фенол выделяется из строительных материалов, мебели из ДСП и МДФ, в составе которых содержится фенолформальдегидная смола [10–12]. Фенол обнаруживается в детских игрушках, изготовленных из различных полимерных материалов, в питьевой воде, копчёных мясных, сырных продуктах и копильных жидкостях [13–18]. В результате метаболизма экзогенного бензола в основном происходит окисление в ароматическом кольце с образованием фенола [19], при расщеплении тирозина бактериями образуется эндогенный фенол [20]. Образующийся в организме и поступающий из внешней среды фенол подвергается окислению с образованием метаболитов, в том числе пирокатехина [21].

Фенол относится к веществам II класса опасности. Накопление эндогенного и экзогенного фенола в организме негативно влияет на здоровье человека: вызывает нарушения функций сердечно-сосудистой и центральной нервной систем, оказывает токсическое действие на почки и печень¹ [22]. Ингаляционное воздействие фенола способствует специфической сенсибилизации и формирует риск развития аллергических заболеваний у детей 4–6 лет [23].

Пирокатехин является производным фенола, отнесён к группе 2В – «возможно, канцерогенный для человека»¹, при попадании на кожу оказывает раздражающее действие [19]. Используется при покраске меха, получении ализарина, адреналина, в качестве проявителя в фотографии [24].

Фенол и его производные широко распространены в окружающей среде и негативно воздействуют на организм человека, поэтому необходимо контролировать их содержание в биологических средах. Основное токсическое действие на организм оказывает свободный фенол, который у здоровых людей связывается с глюкуроновой кислотой и сульфатами и выделяется с мочой. В связи с низким содержанием свободного фенола в цельной крови его определение в биологических средах представляет сложную задачу.

По данным научно-технической литературы, для определения фенола в цельной крови чаще всего применяются методы газовой и жидкостной хроматографии, однако предложенные методики обладают недостаточной чувствительностью, трудоёмки и требуют использования высокотоксичных растворителей, например, метанола и дихлорметана [25–28].

Существующая на сегодняшний день в Российской Федерации аттестованная методика² определения фенола в цельной крови газохроматографическим методом обеспечивает выполнение измерений массовой концентрации фенола в цельной крови в диапазоне концентраций от 0,04 до 0,5 мкг/см³ с погрешностью не более 25%. Основными недостатками методики являются применение высокотоксичных реактивов, трудоёмкая и длительная пробоподготовка, включающая перевод фенола в летучее состояние с применением реакции дериватизации, что сопряжено с возможным частичным разрушением аналита.

Для разработки методики определения фенола в крови методом ВЭЖХ ранее нами были изучены условия извлечения фенола из подкислённой крови (объём 1 мл) смесью ацетонитрила и этилацетата (1 : 1) объёмом 1,5 мл в присутствии высаливающих агентов с последующей очисткой экстракта сорбентом С18 в количестве 0,1 г. Степень экстракции фенола из крови составила более 90%, нижний предел обнаружения (НПО) – 0,02 мг/дм³ [29]. Исследование крови взрослого населения показало наличие фенола в 100% образцов, из которых в 78% проб фенол присутствовал в следовых концентрациях ниже НПО. Для повышения чувствительности определения свободного фенола в крови на уровне реальных концентраций и расширения спектра определяемых компонентов нами проведена модификация указанного метода.

¹ Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 143 с.

² Определение вредных веществ в биологических средах: Сборник методических указаний. МУК 4.1.2108–06 «Определение массовой концентрации фенола в биосредах (кровь) газохроматографическим методом». М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. 2008. 183 с.

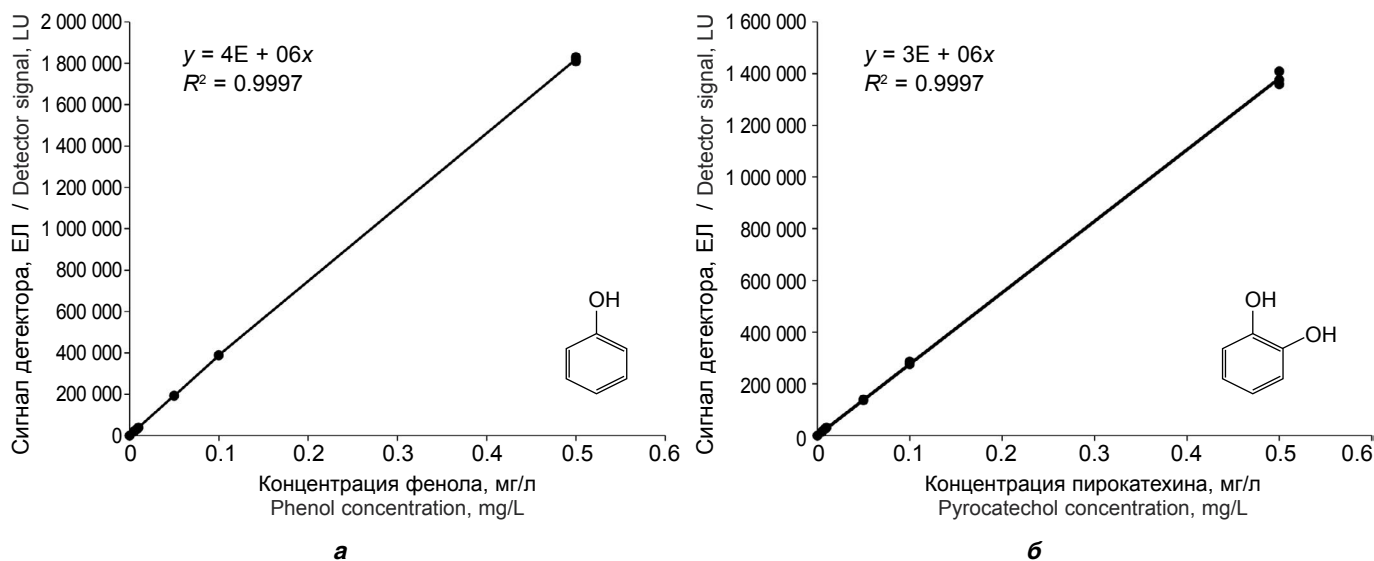


Рис. 1. Градуировочные графики для определения концентрации фенола (а) и пирокатехина (б) в стандартном растворе (сигнал детектора [площадь пика, ЕЛ (единицы люминесценции)).

Fig. 1. Calibration graphs for determining the concentration of phenol (a) and pyrocatechin (b) in a standard solution (detector signal [peak area, EL (luminescence units)).

Цель исследования – количественное определение фенола и пирокатехина в цельной крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Материалы и методы

Исследования по измерению массовых концентраций фенола и пирокатехина в цельной крови методом ВЭЖХ проводили на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20AD Prominence (Япония) с флуориметрическим детектором RF-20A.

Оптимальные условия работы флуориметрического детектора для идентификации и количественного определения аналитов выбирали путём установления максимальных длин волн возбуждения и эмиссии по спектрограммам поглощения, полученным в диапазоне от 190 до 400 нм.

Условия хроматографического разделения фенола и пирокатехина определяли на хроматографической колонке Eclipse XDB с обращённой фазой C18, внутренним диаметром 4,6 мм, длиной 150 мм и размером частиц 5 мкм. Обработку хроматограмм проводили с помощью программы LabSolutions version 6.86.

Отбор образцов венозной крови для анализа в количестве 2 см³ проводили в вакуумные пробирки с внесённым антикоагулянтом (гепарин), пробы хранили в холодильнике при температуре минус 23–24 °С, срок хранения – 72 ч. Перед анализом образцы крови размораживали на воздухе при комнатной температуре.

Количественный анализ фенола и пирокатехина в цельной крови проводили методом абсолютной градуировки. Градуировочные растворы готовили на основе дистиллированной воды с использованием аналитических стандартов фенола и пирокатехина с массовой долей основного вещества не менее 99,3–99,9% (Россия).

Для изучения эффективности извлечения целевых компонентов из матрицы применяли свежеприготовленные стандартные растворы с заданной концентрацией фенола и пирокатехина в крови. Извлечение выполняли способами жидкостной экстракции с использованием полярных и слабополярных растворителей, твердофазной экстракции на картриджах Oasis HLB и по методу QuEChERS. Степень экстракции (R) фенола, пирокатехина из образцов цельной крови рассчитывали по формуле [30]:

$$R = \frac{A \cdot 100}{N}$$

где R – степень экстракции вещества, %; A – извлечённое количество вещества; N – заданное количество вещества в образце.

Жидкостную экстракцию проводили следующим образом. В коническую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 мл вносили 1 мл образца крови (подкислённого 0,05–0,5%-м водным раствором ортофосфорной кислоты в количестве 25–100 мкл или без подкисления), добавляли 1 мл органического растворителя (ацетонитрила, метанола, гексана, этилацетата) или смеси растворителей (смесь метанола с этилацетатом, смесь ацетонитрила с этилацетатом), интенсивно перемешивали в течение 1 мин, центрифугиро-

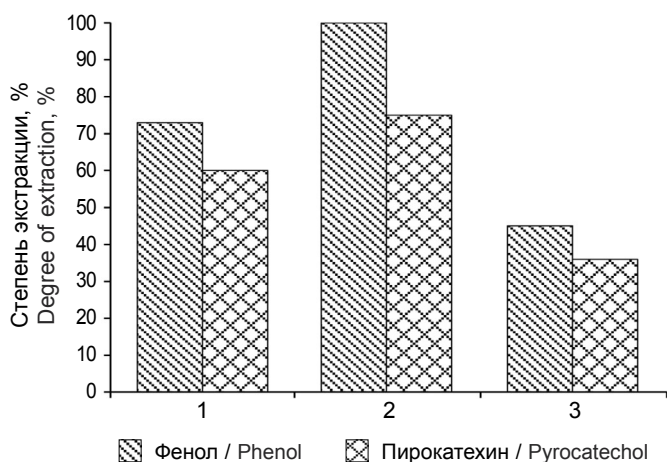


Рис. 2. Сравнение эффективности извлечения фенола и пирокатехина из цельной крови методами жидкостной экстракции (1), QuEChERS (2), твердофазной экстракции на картриджах Oasis HLB (3).

Fig. 2. Comparison of the efficiency of extraction of phenol and catechol from whole blood by methods of liquid extraction (1), QuEChERS (2), solid phase extraction on Oasis HLB cartridges (3).

вали со скоростью 5000 об./мин при температуре плюс 24 °С в течение 10 мин с отделением верхнего слоя органического экстракта.

Твердофазная экстракция проводилась после центрифугирования 2–3 мл крови со скоростью 2000 об./мин при температуре плюс 24 °С в течение 20 мин. Отделённую плазму (1 мл) наносили на картридж Oasis HLB 3СС/60 мг, предварительно обработанный 1 мл метанола или ацетонитрила и промытый 2 мл дистиллированной воды. Через картридж пропускали 1 мл 5%-го водного раствора метанола или ацетонитрила, элюировали фенол и пирокатехин с картриджа 100%-м метанолом (ацетонитрилом) в количестве 1 мл.

Экстракцию по методу QuEChERS проводили по следующему алгоритму. В коническую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 мл помещали 1 мл образца крови (предварительно подкислённой водным раствором ортофосфорной кислоты в количестве 25–100 мкл с процентной концентрацией 0,05; 0,1; 0,25; 0,5% или без подкисления), добавляли 1 мл органического растворителя или смеси растворителей (ацетонитрила, метанола, гексана, этилацетата, смесь метанола с этилацетатом, смесь ацетонитрила с этилацетатом). Затем добавляли 0,25 г смеси солей для экстракции из набора VetExQ (Interlab, кат. № IL-4956), интенсивно перемешивали в течение 1 мин, центрифугировали со скоростью 5000 об./мин при температуре плюс 24 °С в течение 10 мин. Верхний слой экстракта переносили в коническую полипропиленовую пробирку, добавляли смесь для очистки экстракта из набора VetExQ (кат. № IL-4956), перемешива-

ли в течение 1 мин. Центрифугирование проводили со скоростью 5000 об./мин при температуре плюс 24 °С в течение 10 мин, затем отделяли органический экстракт.

Метрологические показатели (повторяемость, внутрилабораторная прецизионность, точность) методики измерений фенола и пирокатехина в цельной крови устанавливали в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1/6–2002³ на основании полученных данных способом «введено – найдено».

Результаты

Установлены оптимальные параметры работы флуориметрического детектора для анализа фенолов в цельной крови методом ВЭЖХ/ФЛД: длина волны возбуждения – 275 нм, длина волны эмиссии – 320 нм. Эффективное хроматографическое разделение фенола и пирокатехина на колонке с обращённой фазой Eclipse XDB C18 достигнуто при применении в качестве элюента смеси ацетонитрила с 0,1%-м раствором уксусной кислоты в объёмном соотношении (35 : 65) в режиме изократического элюирования при скорости потока 0,8 см³/мин. Время выхода пирокатехина – 3,2 мин, фенола – 4,8 мин.

Установлены градуировочные зависимости для измерения концентраций фенола и пирокатехина в диапазоне

³ ГОСТ Р ИСО 5725-1/6–2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений». Принят и введен в действие Постановлением Госстандарта России от 23 апреля 2002 г. № 161-ст.

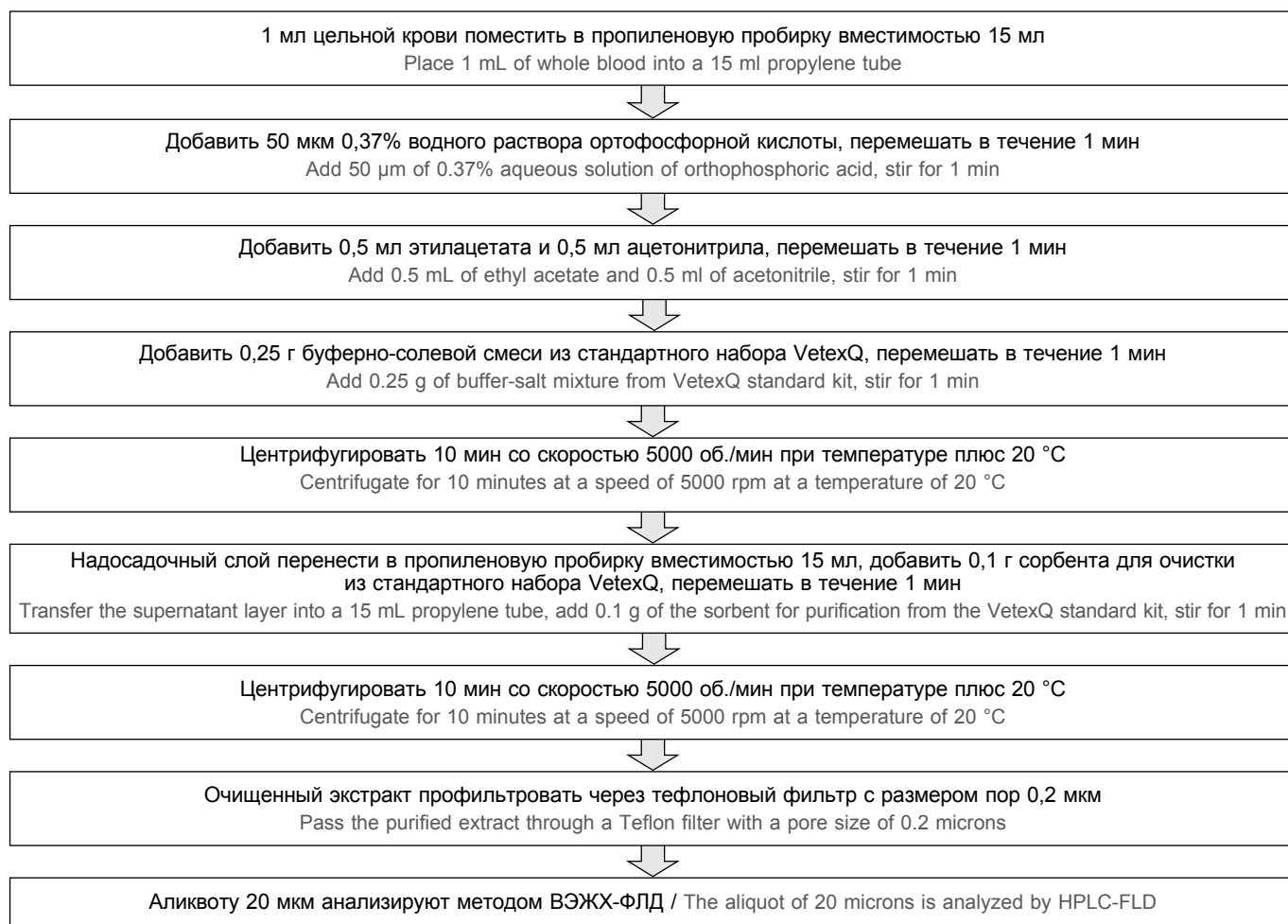


Рис. 3. Схема подготовки проб для анализа фенола и пирокатехина в цельной крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектором (ВЭЖХ-ФЛД).

Fig. 3. Scheme of sample preparation for the analysis of phenol and catechol in whole blood by high-performance liquid chromatography with a fluorescent detector (HPLC-FLD).

Таблица 1 / Table 1

Результаты анализа на содержание фенола образцов крови детей

The results of the analysis of blood samples for the content of phenol

Исследуемая территория Study territory	Диапазон обнаруженных концентраций в крови, мг/дм ³ Range of detected concentrations in the blood, mg/dm ³	Среднегрупповая концентрация, $M \pm m$ Average concentration in the group, $M \pm m$	Межгрупповое различие, p Intergroup difference, p	Кратность превышения, группа 1 / группа 2 Multiplicity of excess, Group 1 / Group 2
Группа (Group) 1 ($n = 145$)	0.0053–0.0505	0.0103 ± 0.0034	≤ 0.05	2.6
Группа (Group) 2 ($n = 27$)	0.0052–0.0072	0.0039 ± 0.0012	≤ 0.05	2.6

Таблица 2 / Table 2

Результаты анализа образцов крови детей на содержание пирокатехина

The results of the analysis of blood samples of children for the content of pyrocatechol

Исследуемая территория Study territory	Диапазон обнаруженных концентраций в крови, мг/дм ³ Range of detected concentrations in the blood, mg/dm ³	Среднегрупповая концентрация, $M \pm m$ Average concentration in the group, $M \pm m$	Межгрупповое различие, p Intergroup difference, p	Кратность превышения, группа 1 / группа 2 Multiplicity of excess, Group 1 / Group 2
Группа (Group) 1 ($n = 145$)	0.0053–0.0392	0.0063 ± 0.0019	≤ 0.05	2.1
Группа (Group) 2 ($n = 25$)	0.0052–0.0089	0.0029 ± 0.0009	≤ 0.05	2.1

0,005–0,5 мг/дм³ в анализируемом растворе (рис. 1). По полученным данным методом наименьших квадратов рассчитаны характеристики градуировочных графиков. Установлена линейность построенных графиков для определения фенола и пирокатехина. Для разработанной методики нижний предел обнаружения фенола и пирокатехина в цельной крови составил 0,005 мг/дм³.

Сравнение эффективности извлечения фенола и пирокатехина из цельной крови методами жидкостной экстракции, QuEChERS и твердофазной экстракции на картриджах Oasis HLB показало, что применение различных способов пробоподготовки влияет на эффективность извлечения аналитов в разной степени (рис. 2).

В результате подбора оптимальных условий пробоподготовки с целью эффективного извлечения фенола и его производных из крови выбран метод QuEChERS. Метод состоит из жидкостной экстракции (ЖЭ) органическим растворителем с добавлением буферно-солевой смеси в образец и очистки органического экстракта с применением дисперсионной твердофазной экстракции (ДТФЭ). Схема подготовки пробы цельной крови для анализа методом ВЭЖХ-ФЛД приведена на рис. 3. Степень извлечения фенола из образцов цельной крови составила 100%, пирокатехина – 75%.

Для проведения апробации разработанной методики специалистами лаборатории методов жидкостной хроматографии ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» выполнены исследования по определению фенола и пирокатехина в пробах цельной крови детей ($n = 145$), проживающих в зоне влияния выбросов предприятия металлургии (группа 1) и детей ($n = 25$), проживающих на экологически чистой территории (группа 2).

В табл. 1 представлены результаты определения фенола в цельной крови детей, проживающих на территориях наблюдения и сравнения. Установлено присутствие фенола в образцах цельной крови у 87% детей, проживающих в зоне влияния выбросов предприятия металлургии (группа 1) и у 67% детей, проживающих на экологически чистой территории (группа 2). Фенол в образцах крови у детей группы 1 определен в диапазоне концентраций от $0,0053 \pm 0,0017$ до $0,0505 \pm 0,0167$ мг/дм³. Среднегрупповая концентрация составила $0,0103 \pm 0,0034$ мг/дм³. Фенол в образцах крови

у детей группы 2 обнаружен в диапазоне концентраций от $0,0052 \pm 0,0017$ до $0,0072 \pm 0,0024$ мг/дм³. Среднегрупповая концентрация составила $0,0039 \pm 0,0012$ мг/дм³. Таким образом, среднегрупповое содержание фенола в цельной крови у детей, проживающих на территории наблюдения, достоверно выше в 2,6 раза ($p \leq 0,05$).

В табл. 2 представлены результаты анализа пирокатехина в цельной крови у детей, проживающих на территориях наблюдения и сравнения. Пирокатехин обнаружен в образцах цельной крови у 35% детей, проживающих на территории в зоне влияния выбросов предприятия металлургии (группа 1), и у 41% детей, проживающих на экологически чистой территории (группа 2).

В группе наблюдения пирокатехин в крови у детей обнаружен в диапазоне от $0,0053 \pm 0,0016$ до $0,0392 \pm 0,0117$ мг/дм³, среднегрупповая концентрация равна $0,0063 \pm 0,0019$ мг/дм³. В группе сравнения пирокатехин в цельной крови у детей обнаружен в диапазоне от $0,0052 \pm 0,0016$ до $0,0089 \pm 0,0027$ мг/дм³, среднегрупповая концентрация равна $0,0029 \pm 0,0009$ мг/дм³. У детей, проживающих на территории наблюдения, установлено достоверно более высокое среднегрупповое содержание пирокатехина в крови – в 2,1 раза ($p \leq 0,05$).

Обсуждение

По литературным данным, при отсутствии внешнего влияния фенол в норме присутствует в микроколичествах в моче и цельной крови человека, являясь естественным продуктом метаболизма. Информация о содержании пирокатехина в цельной крови человека отсутствует. В биосредах фенол определяется в свободной форме, в связанном состоянии и в виде суммы свободного и связанного фенола (общий фенол). В настоящее время нет единого мнения о физиологической норме содержания свободного и связанного фенола в моче и крови человека.

Авторы данного исследования определяли фенол в свободной форме, так как он наносит наибольший вред здоровью. Концентрация фенола в биологических средах значительно варьирует в зависимости от питания, состояния здоровья, образа жизни, внешнего воздействия и ряда других факторов. В работе [31] отмечено, что результаты анали-

за фенола в биологических средах методом газовой хроматографии имеют большие межлабораторные расхождения. В некоторых работах указывается, что концентрация свободного фенола в крови взрослого населения имеет диапазон от 0 до 40 мг/дм³ [32]. По данным Ling W.H. и Hanninen O., концентрация фенола в сыворотке крови, измеренная методом ВЭЖХ, в норме у взрослого человека составляет 0,75 мг/дм³ [33]. Wengle B. указывает, что среднегрупповая концентрация фенола, выделенного в виде кислотных конъюгатов и проанализированного методом газожидкостной хроматографии, в сыворотке крови здоровых пациентов составляет $0,2 \pm 0,3$ мг/дм³ [34].

В настоящем исследовании содержание свободного фенола в цельной крови у детей находится в диапазоне от 0,0052 до 0,0505 мг/дм³, а содержание пирокатехина — в диапазоне от 0,0052 до 0,0392 мг/дм³. Установлено достоверно более высокое ($p \leq 0,05$) среднегрупповое содержание фенола и пирокатехина в цельной крови у детей, проживающих в зоне влияния выбросов металлургического производства. В целом проведённые исследования коррелируют с литературными данными о содержании фенола в крови.

Ограничения исследования. Исследование содержания фенола и пирокатехина в образцах крови, отобранной у детей, ограничено территориями наблюдения и числом обследованных детей: 145 человек, проживающих в зоне влияния выбросов предприятия металлургии, и 25 человек, проживающих на экологически чистой территории. Для установле-

ния фонового содержания фенола и пирокатехина в крови детского населения на популяционном уровне в условиях экологической нагрузки и вне зоны антропогенного влияния необходимо проведение углублённых исследований на различных территориях с более широким охватом обследуемых детей.

Заключение

Анализ фенола и пирокатехина в цельной крови у детей, проживающих на территориях с различной экологической нагрузкой, методом ВЭЖХ показал присутствие фенола в 67–87,6% проб, пирокатехина — в 35,8–41% проб в диапазоне концентраций 0,0052–0,0505 и 0,0052–0,0392 мг/дм³ соответственно. Анализ фенолов в крови включал экстракцию смесью ацетонитрила и этилацетата в присутствии высаливателей и дальнейшую очистку полученного экстракта с помощью насыпного сорбента. Количественное определение проводилось методом абсолютной градуировки на флуориметрическом детекторе. Предел количественного определения концентраций фенола и пирокатехина в крови составляет 0,005 мг/дм³, погрешность анализа фенола — не более 33%, пирокатехина — не более 30%. Разработанная методика может быть использована в гигиенических исследованиях для оценки риска экспозиции фенола на здоровье детского населения, проживающего на территориях с различной антропогенной нагрузкой.

Литература

(п.п. 20, 21, 26–29, 31–34 см. References)

- Некрасова Л.П., Малышева А.Г., Абрамов Е.Г. Трансформация фенола и двухатомных фенолов в поверхностной воде под действием природных физико-химических факторов. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(11): 1206–11. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-11-1206-1211> <https://elibrary.ru/gbyuga>
- Махмудова К.К., Масаев Ю.А., Анисимова А.В. Промышленная переработка каменного угля и ее влияние на экологию окружающей среды. В кн.: *Современные тенденции и инновации в науке и производстве. Материалы IX международной научно-практической конференции*. Кемерово; 2020. <https://elibrary.ru/ymnfnk>
- Тимофеева Е.Э. Выбросы загрязняющих веществ коксохимического производства в атмосферный воздух. В кн.: *Интеграционные процессы в науке в XXI веке. Материалы Международной (заочной) научно-практической конференции*. Нефтекамск; 2018: 17–21. <https://elibrary.ru/lwuful>
- Бактыбаева З.Б., Сулейманов Р.А., Валеев Т.К., Рахматуллин Н.Р., Степанов Е.Г., Давлетгулов Н.Х. Эколого-гигиеническая оценка загрязнения атмосферного воздуха на нефтедобывающих и нефтеперерабатывающих территориях Республики Башкортостан и состояние здоровья населения. *Здоровье населения и среда обитания* — *ЗНСО*. 2020; (2): 26–32. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-323-2-26-32> <https://elibrary.ru/xdszvr>
- Шмуклер Е.Г. Химический состав табачного дыма как фактор жизнедеятельности человеческого организма. *Химия*. 2009; (2): 29.
- Суркова И.В. Антропогенное загрязнение атмосферного воздуха — причина экологически обусловленной заболеваемости населения. *Современные тенденции развития науки и технологий*. 2016; (3-1): 74–83. <https://elibrary.ru/vsybyb>
- Майстренко В.Н., Клюев Н.А. *Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей*. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний; 2004. <https://elibrary.ru/qkexzb>
- Бондарев В.П., Каргина Т.М., Саканян Е.И. К вопросу оценки качества консервантов, используемых в современной практике производства иммунобиологических лекарственных препаратов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2015; (1): 53–8. <https://elibrary.ru/ubdtlf>
- Колесникова О.Н., Рунова О.Б., Устинникова О.Б. Разработка и валидация методики количественного определения фенола методом газожидкостной хроматографии в биологических лекарственных препаратах. *Химико-фармацевтический журнал*. 2018; 52(5): 60–4. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2018-52-5-60-64> <https://elibrary.ru/xpmhtf>
- Мальцева А.Ю. Влияние полимерных материалов на здоровье человека. В кн.: *Всероссийские с международным участием научные Дальневосточные конференции молодых исследователей: материалы чтений, посвящённых памяти В.И. Даля*. Красноярск; 2016: 154–5.
- Малышева А.Г., Рахманин Ю.А. *Физико-химические исследования и методы контроля веществ в гигиене окружающей среды*. СПб.: Профессинал; 2012.
- Малышева А.Г., Калинина Н.В., Юдин С.М. Химическое загрязнение воздушной среды жилых помещений как фактор риска здоровью населения. *Анализ риска здоровью*. 2022; (3): 72–82. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2022.3.06> <https://elibrary.ru/pilzfs>
- Грекова Н.А., Ковшова Т.В., Вашкова О.Н. О необходимости определения фенола в детских игрушках. *Здоровье и окружающая среда*. 2009; (14): 522–6. <https://elibrary.ru/zcdvfx>
- Воробьев В.В. Неблагоприятное побочное действие копильных жидкостей в продуктах питания. *Рыбное хозяйство*. 2011; (3): 103–4. <https://elibrary.ru/oscpqh>
- Сергеева Л.В. Снижение контаминации копченых мясных продуктов. *Глобальный научный потенциал*. 2012; (2): 11–3. <https://elibrary.ru/orqvul>
- Царегородцева Е.В., Филиппова М.В. Содержание фенолов в копченых мясных продуктах. В кн.: *Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства: Мосоловские чтения: материалы Региональной научно-практической конференции; посвящаются 120-летию со дня рождения академика В.П. Мосолова*. Йошкар-Ола; 2008: 509–11. <https://elibrary.ru/recdcl>
- Линкевич Е.Т., Зарипов И.Р. Изучение технологических аспектов производства копченых полутвердых сыров. *Техника и технология пищевых производств*. 2013; (1): 12А–15. <https://elibrary.ru/pwpucc>
- Дианова Д.Г., Зайцева Н.В., Долгих О.В. Особенности лимфоцитарных фенотипов у детей в условиях экспозиции фенола в питьевой воде. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2012; (4): 227. <https://elibrary.ru/pwvadn>
- Лазарев Н.В. *Вредные вещества в промышленности. Справочник для химиков, инженеров и врачей. Органические вещества*. Ленинград: Химия; 1976.
- Батын А.Н., Трусевич М.О. Особенности взаимодействия гемоглобина крови человека с фенолом. *Токсикология*. 2009; (13): 265–8. <https://elibrary.ru/zcdsul>
- Долгих О.В., Дианова Д.Г. Особенности формирования специфической гаптенной сенсибилизации к фенолу у детей. *Анализ риска здоровью*. 2022; (1): 133–9. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2022.1.14> <https://elibrary.ru/bpiken>
- Кнулянич И.Л. *Краткая химическая энциклопедия. Том 3*. М.: Большая Российская энциклопедия; 1992.
- Кочетова М.М., Лурье Б.Л. Определение свободного фенола в сыворотке крови методом газожидкостной хроматографии при гемосорбции. *Вопросы медицинской химии*. 1985; 31(1): 72–4.
- Коренман И.М. *Экстракция в анализе органических веществ*. М.: Химия; 1977.

References

1. Nekrasova L.P., Malysheva A.G., Abramov E.G. Transformation of phenol and diatomic phenols in surface water under the impact of natural physical and chemical factors. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2019; 98(11): 1206–11. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-11-1206-1211> <https://elibrary.ru/qbyray> (in Russian)
2. Makhmudova K.K., Masaev Yu.A., Anisimova A.V. Industrial processing of stone coal and its influence on ecology of the environment. In: *Modern Trends and Innovations in Science and Production. Materials of the IX International Scientific and Practical Conference [Sovremennye tendentsii i innovatsii v nauke i proizvodstve. Materialy IX mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii]*. Kemerovo; 2020. <https://elibrary.ru/yumnfk> (in Russian)
3. Timofeeva E.E. Emissions of pollutants from coke production into the atmospheric air. In: *Integration Processes in Science in the XXI Century. Materials of the International (Correspondence) Scientific and Practical Conference [Integratsionnyye protsessy v nauke v XXI veke. Materialy Mezhdunarodnoy (zaochnoy) nauchno-prakticheskoy konferentsii]*. Neftekamsk; 2018: 17–21. <https://elibrary.ru/lwuful> (in Russian)
4. Baktybaeva Z.B., Suleymanov R.A., Valeev T.K., Rakhmatullin N.R., Stepanov E.G., Davletnurov N.Kh. Environmental and hygienic assessment of ambient air pollution in oil-producing and oil-refining areas of the Republic of Bashkortostan and population health status. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya – ZNiSO*. 2020; (2): 26–32. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-323-2-26-32> <https://elibrary.ru/xdsvzr> (in Russian)
5. Shmukler E.G. The chemical composition of tobacco smoke as a factor in the vital activity of the human body. *Khimiya*. 2009; (2): 29. (in Russian)
6. Surkova I.V. Anthropogenic atmospheric air pollution as a cause of environmentally determined morbidity in the population. *Sovremennye tendentsii razvitiya nauki i tekhnologiy*. 2016; (3–1): 74–83. <https://elibrary.ru/vsybyv> (in Russian)
7. Maystrenko V.N., Klyuev N.A. *Ecological and Analytical Monitoring of Persistent Organic Pollutants [Ekologo-analiticheskiy monitoring stoykikh organicheskikh zagryazniteley]*. Moscow: BINOM. Laboratoriya znaniy; 2004. <https://elibrary.ru/qkezxb> (in Russian)
8. Bondarev V.P., Kargina T.M., Sakanyan E.I. On the issue of assessing the quality of preservatives used in current practice of immunobiological preparations production. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*. 2015; (1): 53–8. <https://elibrary.ru/ubdtlf> (in Russian)
9. Kolesnikova O.N., Runova O.B., Ustinnikova O.B. Development and validation of a gas-chromatographic method for quantitative determination of phenol in biologicals. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. 2018; 52(5): 478–82. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1843-0> <https://elibrary.ru/ybjgct>
10. Mal'tseva A.Yu. Influence of polymeric materials on human health. In: *All-Russian Scientific Dahl Readings of Young Researchers with International Participation: Materials of Readings Dedicated to the Memory of V.I. Dahl [Vserossiyskie s mezhdunarodnym uchastiem nauchnye Dalevskie chteniya molodykh issledovateley: materialy chteniy, posvyashchennykh pamyati V.I. Dallya]*. Krasnoyarsk; 2016: 154–5. (in Russian)
11. Malysheva A.G., Rakhmanin Yu.A. *Physico-chemical studies and methods of monitoring substances in environmental hygiene [Fiziko-khimicheskie issledovaniya i metody kontrolya veshchestv v gigiene okruzhayushchey sredy]*. St. Petersburg: Professional; 2012. (in Russian)
12. Malysheva A.G., Kalinina N.V., Yudin S.M. Chemical air pollution in dwelling as a health risk factor. *Analiz riska zdorov'yu*. 2022; (3): 72–82. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2022.3.06> <https://elibrary.ru/pilzfs> (in Russian)
13. Grekova N.A., Kovshova T.V., Vashkova O.N. The necessity of phenol detecting in toys for children. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda*. 2009; (14): 522–6. <https://elibrary.ru/zcdvfx> (in Russian)
14. Vorob'ev V.V. Hazardous side effects of smoking fluids that are used for preparing foodstuffs. *Rybnoe khozyaystvo*. 2011; (3): 103–4. <https://elibrary.ru/ocpqh> (in Russian)
15. Sergeeva L.V. Reduction of contamination with smoked meat products. *Global'nyy nauchnyy potentsial*. 2012; (2): 11–3. <https://elibrary.ru/orqvul> (in Russian)
16. Tsaregorodtseva E.V., Filippova M.V. Content of phenols in smoked meat products. In: *Topical Issues of Improving the Technology of Production and Processing of Agricultural Products: Mosolov Readings: Materials of the Regional Scientific and Practical Conference; Dedicated to the 120th Anniversary of the Birth of Academician V.P. Mosolov [Aktual'nye voprosy sovershenstvovaniya tekhnologii proizvodstva i pererabotki produktov sel'skogo khozyaystva: Mosolovskie chteniya: materialy Regional'noy nauchno-prakticheskoy konferentsii; posvyashchayutsya 120-letiyu so dnya rozhdeniya akademika V.P. Mosolova]*. Yoshkar-Ola; 2008: 509–11. <https://elibrary.ru/recdcl> (in Russian)
17. Linkevich E.T., Zaripov I.R. Semi-hard cheese production. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv*. 2013; (1): 12A–15. <https://elibrary.ru/pwpuwpc> (in Russian)
18. Dianova D.G., Zaytseva N.V., Dolgikh O.V. Features of lymphocyte phenotypes in children exposed to phenol via drinking water. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2012; (4): 227. <https://elibrary.ru/pwvadvn> (in Russian)
19. Lazarev N.V. *Harmful Substances in Industry. Handbook for Chemists, Engineers and Doctors. Organic Substances [Vrednye veshchestva v promyshlennosti. Spravochnik dlya khimikov, inzhenerov i vrachev. Organicheskie veshchestva]*. Leningrad: Khimiya; 1976. (in Russian)
20. McDonald T.A., Holland N. Hypothesis: Phenol and hydroquinone derived mainly from diet and gastrointestinal flora activity are causal factors in leukemia. *Leukemia*. 2001; 15(1): 10–20. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2401981>
21. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Phenol. U.S. department of health and human services; 2008. Available at: https://stacks.cdc.gov/view/cdc/5294/cdc_5294_DS1.pdf
22. Batyan A.N., Trusevich M.O. Features of interaction of hemoglobin of human blood with phenol. *Toksikologiya*. 2009; (13): 265–8. <https://elibrary.ru/zcdsul> (in Russian)
23. Dolgikh O.V., Dianova D.G. Peculiarities detected in formation of specific hapten sensitization to phenol in children. *Analiz riska zdorov'yu*. 2022; (1): 123–9. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2022.1.14> <https://elibrary.ru/bvbxro>
24. Knunyants I.L. *Brief Chemical Encyclopedia. Volume 3 [Kratkaya khimicheskaya entsiklopediya. Tom 3]*. Moscow: Bol'shaya Rossiyskaya entsiklopediya; 1992. (in Russian)
25. Kochetova M.M., Lur'e B.L. Determination of free phenol in blood serum by gas-liquid chromatography during hemisorption. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1985; 31(1): 72–4. (in Russian)
26. Harrison L., Morrison J., Fennessey P. Microtechnique for quantifying phenol in plasma by gas chromatography-mass spectrometry. *Clin. Chem*. 1991; 37(10 Pt. 1): 1739–42.
27. Niwa T. Phenol and p-cresol accumulated in uremic serum measured by HPLC with fluorescence detection. *Clin. Chem*. 1993; 39(1): 108–11.
28. Boatto G., Nieddu M., Carta A., Pau A., Lorenzoni S., Manconi P., et al. Determination of phenol and o-cresol by GC/MS in a fatal poisoning case. *Forensic Sci. Int*. 2004; 139(2-3): 191–4. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2003.10.023>
29. Starchikova M.O., Karnajickaya T.D., Ulanova T.S. Determination of phenol in human blood by high-performance liquid chromatography. In: *Materials of the 95th Final Scientific and Practical Conference of PSMU Named after Academician E.A. Wagner: Young Science – Practical Public Health*. Perm'; 2022: 144–5.
30. Korenman I.M. *Extraction in the Analysis of Organic Substances [Ekstraktsiya v analize organicheskikh veshchestv]*. Moscow: Khimiya; 1977. (in Russian)
31. Van Roosmalen P.B., Purdham J., Drummond I. An improved method for the determination of phenol in the urine of workers exposed to benzene or phenol. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 1981; 48(2): 159–63. <https://doi.org/10.1007/bf00378436>
32. Horch R., Spilker G., Stark G.B. Phenol burns and intoxications. *Burns*. 1994; 20(1): 45–50. [https://doi.org/10.1016/0305-4179\(94\)90105-8](https://doi.org/10.1016/0305-4179(94)90105-8)
33. Ling W.H., Hänninen O. Shifting from a conventional diet to an uncooked vegan diet reversibly alters fecal hydrolytic activities in humans. *J. Nutr*. 1991; 122(4): 924–30. <https://doi.org/10.1093/jn/122.4.924>
34. Wengle B., Hellström K. Volatile phenols in serum of uraemic patients. *Clin. Sci*. 1972; 43(4): 493–8. <https://doi.org/10.1042/cs0430493>