

ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИОДИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ В МОЧЕ

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

*Восточно-Сибирский научный центр Экологии человека СО РАН,
лаборатория физико-химических методов исследований
Российская Федерация, 665827, г. Ангарск, 12^я м-н, д. 3
labchem99@gmail.com*

Поступила в редакцию 11 июля 2013 г.,
после исправления – 23 сентября 2013 г.

Оптимизирована пробоподготовка мочи для ГХ-МС определения тиодиуксусной кислоты в диапазоне от 0.1 до 10 мкг/см³. Подготовка пробы основана на проведении дериватизации метанолом в присутствии трифторида бора (10 % мас.) с последующей жидкостно-жидкостной микроэкстракцией диметилового эфира кислоты. Реакцию дериватизации осуществляют при температуре 80 °С в течение 15 мин. Газохроматографический анализ выполняется на капиллярной колонке HP-5ms в режимах температурного градиента и без деления потока. Масс-спектрометрическое детектирование происходит в режиме регистрации выборочных ионов (SIM). Идентификацию производного тиодиуксусной кислоты на масс-хроматограммах проводят по абсолютному времени удерживания (10.36 мин) и соотношению интенсивностей пиков регистрируемых ионов (146, 178). Случайная составляющая погрешности определения и показатель точности в виде расширенной неопределённости не превышают 2 и 25 % соответственно.

Ключевые слова: тиодиуксусная кислота в моче, жидкостно-жидкостная микроэкстракция, дериватизация метанолом, газовая хромато-масс-спектрометрия биологических матриц.

Алексеенко Антон Николаевич – к.х.н., младший научный сотрудник Ангарского филиала Восточно-Сибирского научного центра Экологии человека СО РАН.

Область научных интересов: газохроматографический анализ сложных объектов, методы пробоподготовки в газохроматографическом анализе, метрологический контроль качества результатов.

Автор 12 опубликованных работ.

Журба Ольга Михайловна – к.б.н., научный сотрудник Ангарского Института медицины труда и экологии человека.

Область научных интересов: промышленно-санитарный контроль воздуха рабочей зоны, химико-токсикологический анализ биологических сред, метаболизм промышленных токсикантов.

Автор 26 опубликованных работ.

Шаяхметов Салим Файзиевич – д.м.н., зам. директора по науке.

Область научных интересов: биологический мониторинг, медицина труда, состояние здоровья работников химических производств.

Автор более 140 опубликованных работ.

Введение

Определение продуктов трансформации высокотоксичных веществ (метаболитов) в биологических жидкостях человека при гигиенических исследованиях является чрезвычайно актуальной задачей [1, 2]. Выявление факта воздействия токсичных веществ и оценки уровня экспозиции необходимо как компонент медицинских мероприятий для предупреждения профессиональных и производственно-обусловленных заболеваний. До настоящего времени не разработано документов, обобщающих и регламентирующих подходы к иден-

тификации и определению продуктов метаболизма токсичных соединений в биологических средах.

Тиодиуксусная кислота (**ТДУК**, HOOC—CH₂—S—CH₂—COOH) является конечным продуктом метаболизма винилхлорида и 1,2-дихлорэтана. Её определение в моче необходимо для оценки воздействия данных хлорорганических токсикантов у лиц, работающих в производствах винилхлорида и поливинилхлорида [3-7].

Наиболее подходящим методом определения данного соединения является газовая хромато-масс-спектрометрия (**ГХ-МС**), которая применяется в большинстве лабораторий химико-токсикологиче-

ского анализа [8]. ГХ-МС определение гидрофильной ТДУК, содержащей в молекуле две карбоксильные группы с активными атомами водорода, требует обязательного получения её летучих производных; также многокомпонентность мочи и присутствие в ней определяемого соединения на следовом уровне концентраций обуславливают трудности подготовки пробы и анализа. Подготовка пробы должна обеспечивать не только достаточно эффективное отделение аналита от матричных компонентов, но и количественное извлечение в паровоздушную фазу, твёрдый сорбент или в органический растворитель, в зависимости от используемого способа пробоподготовки [9-11].

До настоящего времени методик по определению ТДУК в моче очень мало, они носят поверхностно-описательный характер и трудоёмки в исполнении.

Определение ТДУК методом газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием [12] основано на введении в пробу мочи (5 см³) о-фталевой кислоты (внутренний стандарт), проведении трёхкратной жидкостной экстракции этилацетатом, упаривании растворителя досуха, получении силильного производного при обработке N-триметилсилилдиэтиламино в пиридине, анализе полученного экстракта на насадочной колонке в режиме программирования температуры. Предел обнаружения ТДУК составляет 10 мкг/см³.

В работе [13] предложена простая и селективная газохроматографическая методика определения ТДУК в моче с пламенно-фотометрическим детектированием, включающая упаривание досуха пробы мочи (1 см³) на водяной бане, растворение сухого остатка в смеси (2:1) метанол – диэтиловый эфир, проведение дериватизации диазометаном, упаривание раствора до объёма 1 см³ и анализ полученного экстракта на насадочной колонке в изотермическом режиме. Предел обнаружения ТДУК по данной методике составляет 0.5 мкг/см³.

Определение ТДУК методом газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием [14] основано на её экстракции этилацетатом из пробы мочи (5 см³) с последующим центрифугированием, упариванием экстракта досуха и добавлении к остатку N-триметилсилилдиэтиламина в пиридине для проведения силилирования, и анализе силильного производного на капиллярной колонке. Предел обнаружения ТДУК в моче составляет 1 мкг/см³.

Все методики обладают следующими недостатками: использование в качестве реагента для получения производных токсичного, канцерогенного, взрывоопасного диазометана; низкие степени извлечения в процессе пробоподготовки, о чём свидетельствует предел обнаружения 1 мкг/см³ при объёме пробы 5 см³ с использованием очень чувствительного масс-спектрометрического детектора и 10 мкг/см³ при использовании пламенно-ионизационного детектора;

продолжительная и трудоёмкая подготовка пробы во всех способах, требующая больших количеств особо чистых растворителей – метанола, диэтилового эфира, этилацетата.

Так как для извлечения ТДУК из пробы мочи в основном применяется экстракция органическим растворителем, возникает проблема устранения мешающего влияния органического растворителя и других сопутствующих компонентов при газохроматографическом анализе экстракта. Поэтому нужно найти оптимальный режим газожидкостной хроматографии, применив индивидуальный подход к выбору газохроматографических условий (колонки, температурного режима, способа ввода образца) чтобы достичь компромисса между скоростью, чувствительностью и разрешающей способностью газохроматографического анализа.

Цель работы состояла в оптимизации пробоподготовки путём повышения эффективности извлечения ТДУК из пробы мочи и снижения расходов органических растворителей для последующего определения ТДУК методом ГХ-МС. В ходе исследования нами были решены следующие задачи: выбраны оптимальные условия ГХ-МС анализа; оптимизированы условия пробоподготовки путём использования этерификации метанолом с последующей жидкостно-жидкостной микроэкстракцией; проведены метрологические исследования.

Аппаратура, материалы, реактивы, методика

Оборудование. В работе использовали газовый хроматограф Agilent 7890A с пламенно-ионизационным детектором и хромато-масс-спектрометр Agilent 5975C, снабжённые автоинжектором Agilent 7693, позволяющим регулировать глубину погружения иглы хроматографического микрошприца в виалу.

Реактивы и материалы. Для приготовления модельных растворов и подготовки проб применяли следующие реактивы и материалы: тиодиауксусную кислоту (98 % мас., Aldrich), диметилловый эфир ТДУК, этилацетат (ос.ч.), растворы трифторида бора (10 % мас.) и серной кислоты (30 % мас.) в метаноле, сульфат натрия (х.ч.), воду дистиллированную.

Методика. В стеклянный хроматографический флакон вместимостью 1.5 см³ помещали 0.1 см³ анализируемого образца, 0.1 см³ раствора трифторида бора (10 %) в метаноле. Сосуд закрывали пластмассовой завинчивающей крышкой с септой и выдерживали в термостате 15 мин при температуре 80–85 °С. Затем, после охлаждения, добавляли 0.5 см³ этилацетата, 0.9 см³ раствора сульфата натрия с концентрацией 180 мг/см³. Пробу встряхивали в течение 5 мин и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 3 мин. После расслоения фаз флакон помещали в автоинжектор газового хроматографа, который отбирал из флакона 1 мкл верхнего органического слоя и вводил в испаритель.

Таблица 1

Оптимальные условия ГХ-МС анализа для диметилового эфира ТДУК

Условия анализа	Значения
Колонка	НР-5ms 30 м x 250 мкм, толщина слоя фазы 0.25 мкм
Газ-носитель	Гелий особой чистоты, постоянный поток через колонку 1 см ³ /мин
Температурный режим термостата колонки	Градиент 80 °С с выдержкой 1 мин, подъём со скоростью 5 °С/мин до 130 °С
Режим переноса образца в колонку	250 °С, «без деления потока», длительность 0.3 мин, продувка 40 см ³ /мин
Режим МС	Температура интерфейса, ионного источника и квадруполя: 280, 230 и 150 °С; Время задержки включения филамента на выход растворителя – 4 мин; Режим регистрации масс-хроматограмм: SIM (146, 178);

ритель хроматографа. Масс-хроматограмму регистрировали в условиях, представленных в табл. 1.

Диметиловый эфир ТДУК идентифицировали по абсолютному времени удерживания (10.36 мин) и соотношению интенсивностей пиков ионов 146 (основной) и 178 (подтверждающий). Интенсивность иона 178 должна составлять (55 ± 20) % от интенсивности иона 146.

Градуировочная характеристика выражает зависимость площади хроматографического пика по пику иона 146 от массовой концентрации определяемого компонента (0.1-10 мкг/см³). Коэффициент корреляции составляет 0.998.

Результаты и их обсуждение

Выбор оптимального режима газовой хроматографии (ГХ). Ввиду того, что ТДУК определяют в виде её диметилового эфира, разработку оптимального режима ГХ осуществляли с помощью диметилового эфира ТДУК в этилацетате. Опробовали несколько комбинаций изотермического режима и градиента температуры со способами введения образца в колонку (с делением потока, импульсный ввод с делением потока, и без деления потока на двух капиллярных колонках различной длины и полярности). Установлено, что именно в условиях градиента температуры и без деления потока достигают оптимального разделения компонентов смеси и достаточно высокой чувствительности определения.

Выбор оптимальных условий подготовки проб. Для совмещения стадий получения производного и экстракции в одной ёмкости с минимальным

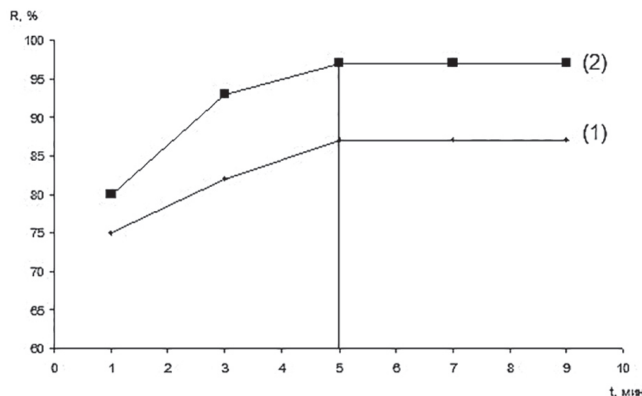


Рис. 1. Зависимость степени извлечения R диметилового эфира ТДУК от продолжительности встряхивания t флаконов в присутствии H₂SO₄ (1) и BF₃ (2)

расходом органических растворителей использовали хроматографический флакон вместимостью 1.5 см³ с закручивающейся крышкой и тефлоновой мембраной. Эмпирически подобраны объёмы водной и органической (экстрагент) фаз, которые составили 1 и 0.5 см³ соответственно. В качестве экстрагента использовали этилацетат. Соотношение (1:1 по объёму) пробы и метанола, содержащего 31 % серной кислоты или 10 % трифторида бора обеспечивает конверсию ТДУК в её диметиловый эфир с выходом, близким к количественному. Для оценки степени извлечения анализировали образец мочи (0.1 см³) с добавкой 0.5 мкг диметилового эфира ТДУК (рис. 1).

Степень экстракции возрастает до максимального значения 97 % в течение 5 мин в случае трифторида бора, а в случае серной кислоты – 87 %. Сходимость результатов определения степени экстракции S_r = 0.06 (n = 3).

Исследована зависимость степени дериватизации ТДУК метанолом в моче от температуры, продолжительности реакции и природы катализатора (трифторид бора и серная кислота).

Как следует из рис. 2, с повышением температуры и продолжительности нагревания степень дериватизации возрастает. Природа катализатора не оказывает значимого влияния на увеличение степени дериватизации. Оптимальными условиями

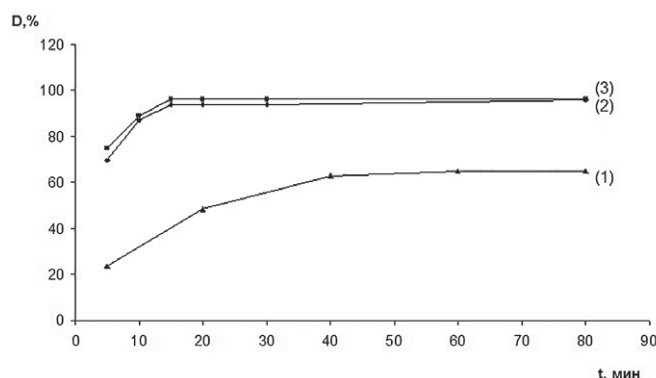


Рис. 2. Зависимости степени дериватизации ТДУК от продолжительности нагревания флаконов при 60 °С с H₂SO₄ (1), 80 °С с H₂SO₄ (2) и 80 °С с BF₃ (3)

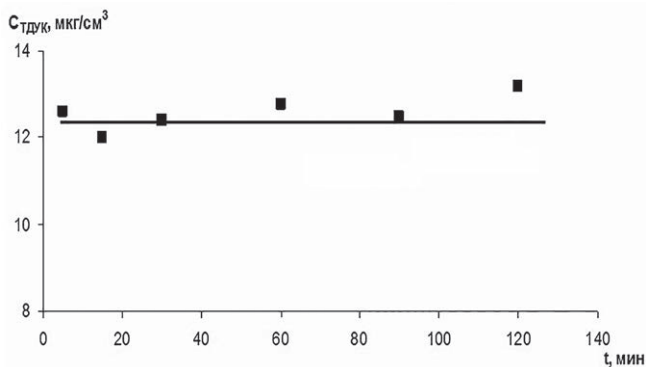


Рис. 3. Зависимость концентрации ТДУК в моче от продолжительности нахождения производного ТДУК в системе «проба-метанол»

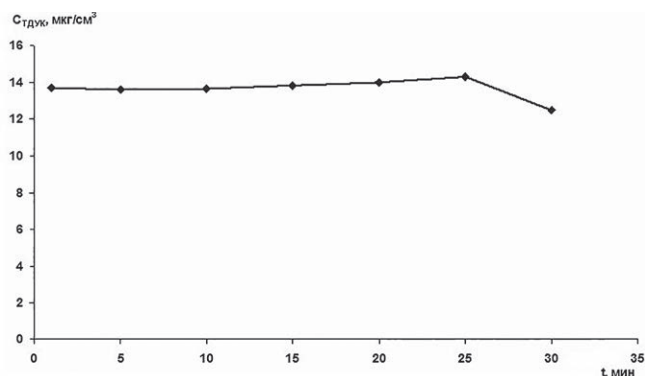


Рис. 4. Зависимость концентрации ТДУК в моче от продолжительности нахождения производного ТДУК в водной фазе

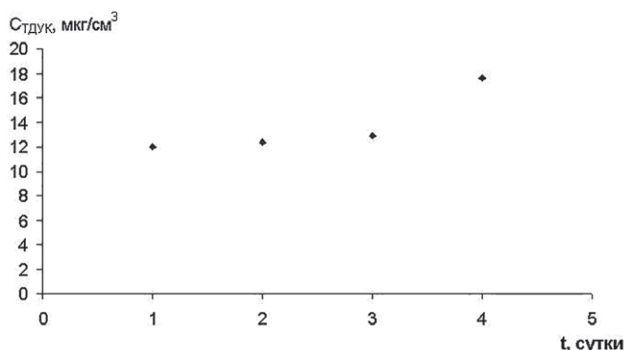


Рис. 5. Зависимость концентрации ТДУК в моче от продолжительности хранения экстракта во флаконе

проведения реакции этерификации ТДГК метанолом в присутствии BF_3 являются температура 80°C и продолжительность нагревания не менее 15 мин. Сходимость результатов определения степени дериватизации $S_r = 0.04$ ($n = 3$).

Подобрав оптимальные условия пробоподготовки, провели исследования по стабильности деривата ТДУК в системе “проба – метанол – трифторид бора”, в водно-солевой фазе после добавления раствора сульфата натрия и в органической фазе.

В первой зависимости (рис. 3) между значениями концентрации ТДУК существует разброс, характеризующийся значением коэффициента вариации $V = 3\%$ при $n = 12$.

Во второй зависимости (рис. 4) значение концентрации ТДУК уменьшается после 25 мин. На последнем графике (рис. 5) концентрация ТДУК в моче начинает резко возрастать на четвёртые сутки. Это связано с улетучиванием этилацетата, что приводит к увеличению содержания деривата ТДУК в органической фазе.

Идентификация и количественное определение. Для подтверждения отнесения пика на хроматограмме с $t_R = 10.36$ мин к определяемому веществу получен его масс-спектр в режиме сканирования (от 15 до 550 а.е.м.) при ионизации электронным ударом. Измеренный масс-спектр сопоставлен с библиотечным масс-спектром.

Вероятность идентификации составляет 90%. Молекулярным ионом является пик с $m/z = 178$, который соответствует молекулярной массе диметилового эфира ТДУК. К другим более интенсивным пикам относятся следующие ионы с m/z : 146, 119 и 45. Масс-хроматограммы по данным четырём ионам, показывают, что наилучшая чувствительность обеспечивается по $m/z = 146$. В качестве подтверждающего иона целесообразнее использовать только 178, так как в масс-хроматограммах по значениям $m/z = 45$ и 119 присутствуют большие шумы.

Изучены два способа выполнения параллельных определений ТДГК в образцах мочи. Первый способ включал подготовку проб двух одинаковых образцов с последующим однократным газохроматографическим анализом каждого образца, второй – подготовку пробы одного образца с последующим двукратным газохроматографическим анализом этого образца. В каждом способе методом однофакторного дисперсионного анализа оценили вклад погрешности пробоподготовки и погрешности нестабильности аналита в экстракте в суммарную погрешность результатов анализа. Для этого приготовили модельные растворы мочи, содержащие разные концентрации ТДУК. Из каждого раствора брали две аликвоты объёмом 0.1 см^3 , проводили пробоподготовку и выполняли по два параллельных определения, дважды хроматографируя органическую фазу из флакона. При таком планировании эксперимента суммарную дисперсию $S_{r\text{общ}}^2$, характеризующую суммарную погрешность определения ТДУК, можно разложить на две составляющие погрешности [15]:

$$S_{r\text{общ}}^2 = S_{r\text{пн}}^2 + S_{r\text{н}}^2, \quad (1)$$

где $S_{r\text{н}}^2$ – дисперсия, характеризующая нестабильность аналита в органической фазе; $S_{r\text{пн}}^2$ – дисперсия, характеризующая погрешность подготовки проб. Как показали результаты дисперсионного анализа, погрешность подготовки проб ($S_{r\text{пн}} = 0.03$) не превышает погрешность нестабильности ($S_{r\text{н}} = 0.03$). Поэтому в дальнейшем при построении градуировочного графика, оценке метрологических характеристик и анализе реальных образцов измерения

проводили с подготовкой пробы одного образца и двукратным газохроматографическим анализом органической фазы этого образца.

Метрологические исследования. Оценены следующие метрологические характеристики: предел обнаружения, повторяемость, внутрилабораторная прецизионность, правильность, точность [15-17]. Результаты представлены в табл. 2.

Правильность оценивали способом добавок с использованием реальных проб мочи. Величина добавки составляла 50-200 % от содержания ТДУК в анализируемой пробе. Проводили анализ проб мочи с добавкой и без добавки и рассчитывали значения K и $K_{доп}$ (норматив внутреннего контроля) по формулам (2) и (3):

$$K = |X_d - X - C_d| \quad \text{и} \quad (2)$$

$$K_{доп} = 0.84 \cdot \sqrt{(U_{отн} \cdot X)^2 + (U_{отн} \cdot X_d)^2}, \quad (3)$$

где X – содержание ТДУК в анализируемой пробе без добавки, X_d – содержание ТДУК в анализируемой пробе с добавкой, C_d – величина добавки ТДУК, $U_{отн}$ – относительная расширенная неопределённость определения ТДГК в пробах мочи. Результаты оценки правильности представлены в табл. 3.

Сравнение K с $K_{доп}$ показало, что систематическая погрешность незначима на фоне случайной погрешности, так как $K < K_{доп}$.

На рис. 6 приведены масс-хроматограммы пробы мочи и той же пробы с добавкой ТДУК. Видно, что разделение пиков удовлетворительное, этилацетат, метанол, примеси в органических растворителях, сопутствующие компоненты проб мочи не мешают определению.

Таблица 2

Метрологические характеристики определения ТДУК в моче методом ГХ-МС (предел обнаружения 0.01 мкг/см³)

Метрологические характеристики	Значения		
	0.1-0.5	0.5-1	1-10
Диапазон определяемых концентраций, мкг/см ³	0.1-0.5	0.5-1	1-10
Повторяемость (относительное стандартное отклонение σ_r), %	0.6	1.1	1
Внутрилабораторная прецизионность (относительное стандартное отклонение σ_{RN}), %	2	0.8	1
Точность (расширенная неопределённость U , $P = 0.95$), %	25	3	17

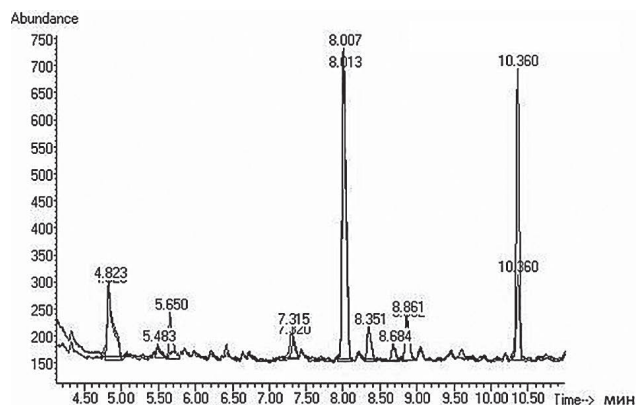


Рис. 6. Масс-хроматограммы пробы мочи и пробы с добавкой ТДУК, $t_R = 10.360$ мин

Заключение

Таким образом, разработанная пробоподготовка в методике ГХ-МС определения ТДУК в моче имеет следующие уникальные особенности: проведение всех её стадий (внесение реагентов, получение производного, микроэкстракция, центрифугирование) в одной ёмкости (хроматографическом флаконе); количественная дериватизация (94 %) и экстракция (87 %); низкое значение предела обнаружения (0.01 мкг/см³) и высокая внутрилабораторная прецизионность (2 %), малый объём анализируемой пробы (0.1 см³); низкие расходы особо чистых растворителей (этилацетат, трифторид бора в метаноле).

ЛИТЕРАТУРА

1. Каспаров А.А. Токсикометрия химических веществ, загрязняющих окружающую среду. М.: Центр международных проектов ГЖНТ, 1986. 428 с.
2. Орлова О.И. Применение биомониторинга для оценки характера и тяжести воздействия химического фактора // Медицина труда и промышленная экология. 2010. № 12. С. 28-33.
3. Analytical Procedures Used in Examining Human Urine Samples / K. Kozłowska et al. // Polish J. of Environmental Studies. 2003. V. 12., № 6. P. 503-521.
4. The Environmental health criteria 215. Vinyl Chloride. Geneva: International programme on chemical safety, 1999. 331 p.
5. Гигиенические критерии состояния окружающей среды 62. 1,2-Дихлорэтан. Женева: Международная программа по химической безопасности, 1990. 80 с.
6. Müller G. Identification of two urine metabolites of vinyl chloride by GC-MS investigations // International Archives of Occupational and Environmental Health. 1976. V. 38. P. 69-75.
7. Müller G., Norpöth K. Bestimmung zweier Urinmetabolite des Vinylchlorids // Naturwissenschaften. 1975. V. 62. S. 541 – 545.
8. Гладилович В.Д. Возможности применения метода ГХ-МС (Обзор) // Научное приборостроение. 2010. Т. 20, № 4. С.36-49.
9. Другов Ю.С., Зенкевич И.Г., Родин А.А. Газохроматографическая идентификация загрязнений воздуха, воды, почвы и биосред. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. 752 с.

10. Байерман К. Определение следовых количеств органических веществ: Пер. с англ. М.: Мир, 1987. 429 с.
11. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов / Н.И. Калетиной и [др]. М.: ГЭОТАР - Медиа, 2008. 1016 с.
12. Draminski W. Chromatographic determination of thiodiglycolic acid – a metabolite of vinyl chloride // Archives of Toxicology. 1981. V. 48. P. 289-292.
13. Chen Z.Y. Sensitive flame-photometric-detector analysis of thiodiglycolic acid in urine as a biological monitor of vinyl chloride // Int. Arch. Occup. Environ. Health. 1983. V. 82. P. 281-284.
14. Cheng Tsun-Jen. Urinary thiodiglycolic acid levels for vinyl chloride monomer exposed polyvinyl chloride workers // J. Occup. Environ. Med. 2001. V. 43, № 11. P. 934-938.
15. Смагунова А.Н. Методы математической статистики в аналитической химии. Ростов на Дону: Феникс, 2012. 346 с.
16. РМГ 61-2003. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. Екатеринбург: УНИИМ, 2005. 38 с.
17. Кадис. Р.Л. Неопределённость измерений и химический анализ // Ж. аналитической химии. 2008. Т. 63, № 1. С. 104-110.

CHROMATOGRAPHY-MASS-SPECTROMETRY DETERMINATION OF THIODIACETIC ACID IN URINE

O.M. Zhurba, A. N. Alekseenko, S.F. Shaiakhmetov

*East-Siberian Scientific Centre of Human Ecology» of Siberian Department of Russian Academy of Medical Sciences,
Laboratory of physical-chemical methods of researches
Block 12^a, 3, Angarsk, 665827, Russian Federation*

We used the gas chromatograph Agilent 7890A with a flame ionization detector and gas chromatography-mass spectrometer Agilent 5975C in the present work. Dimethyl ester of thiodiacetic acid was identified by the absolute retention time (10.36 min), and the ratio of the peak intensities of the ions 146 (primary) and 178 (confirmation). The calibration curve is characterized by a linear dependence of the chromatographic peak area for the ion at m/z 146 of the mass concentration of the analyte in the range of 0.1 – 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. Optimal chromatographic separation of the mixture components and a sufficiently high detection sensitivity can be achieved with a temperature gradient and splitless. To combine the derivatization and extraction in a single container with a minimum flow rate of organic solvents used chromatographic vial capacity of 1.5 cm^3 with screw cap and teflon membrane. Ratio (1:1 by volume) a sample and methanol containing 10 % boron trifluoride provides conversion of thiodiacetic acid in her dimethyl ester in 94 % yield at 80 °C for 15 min. The recovery of derivative thiodiacetic acid is 97%. Single measurements can be performed with the preparation of samples of one sample and two-time gas chromatographic analysis of the organic phase of the sample. Estimated to following metrological characteristics: detection limit (0.01 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$), repeatability, interlaboratory precision, trueness, accuracy. Repeatability and interlaboratory precision does not exceed 2 %. Assessing the trueness of the results by the method of addition found no significant systematic errors.

Key words: thiodiacetic acid in urine, liquid-liquid microextraction, derivatization by methanol, gas chromatography-mass-spectrometry of biological matrixes.

REFERENCES

1. Kasparov A.A. *Toksikometriia khimicheskikh veshchestv, zagriazniaiushchikh okruzhaiushchuiu sredu* [Toxicometry of chemicals polluting the environment]. Moscow, Tsentr mezhdunarodnykh proektov GZhNT Publ., 1986. 428 p. (in Russian).
2. Orlova O.I. [The use of biomonitoring to assess the nature and severity of the influence of a chemical factor]. *Meditsina truda i promyshlennaia ekologiya* [Occupational Medicine and Industrial Ecology], 2010, no. 12. pp. 28-33 (in Russian).
3. Kozłowska K., Polkowska Z., Przyjazny A., Namieśnik. Analytical Procedures Used in Examining Human Urine Samples. *Polish J. of Environmental Studies*, 2003, vol. 12, no. 5, pp. 503-521.
4. *The Environmental health criteria 215. Vinyl Chloride*. Geneva: International programme on chemical safety, 1999. 331 p.
5. *Gigienicheskie kriterii sostoiianiia okruzhaiushchei sredy 62. 1,2-Dikhloretan* [The Environmental health criteria 62. 1,2-dichloroethane]. Zheneva: Mezhdunarodnaia programma po khimicheskoi bezopasnosti Publ., 1990. 80 p. (in Russian).
6. Müller G. Identification of two urine metabolites of vinyl chloride by GC-MS investigations *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 1976, vol. 38, pp. 69-75.
7. Müller G., Norpoth K. Bestimmung zweier Urinmetabolite des Vinylchlorids. *Naturwissenschaften*, 1975, vol. 62, pp. 541-545.
8. Gladilovich V.D. [The possibility of applying the method of GC-MS (Review)]. *Nauchnoe priborostroenie* [Scientific instrument making], 2010, vol. 20, no. 4, pp. 36-49 (in Russian).
9. Drugov Iu.S., Zenkevich I.G., Rodin A.A. *Gazokhromatograficheskaiia identifikatsiia zagriaznenii vozdukh, vody, pochvy i biosred* [Gas chromatographic identification of pollution of air, water, soil and biological media]. Moscow, BINOM Laboratoriia znaniia Publ., 2010. 752 p. (in Russian).
10. Bayerman K. *Determination of trace amounts of organic substances*. New-York, Wiley, 1974. 429 p. (Rus. ed.: Bayerman K. *Opreделение sledovykh kolichestv organicheskikh veshchestv*. Moscow, Mir Publ., 1987. 429 p.).

11. Kaletina N.I. *Toksikologicheskaja khimiia. Metabolizm i analiz toksikantov* [Toxicological Chemistry. Metabolism and analysis of toxicants]. Moscow.: GEOTAR – Media Publ., 2008. 1016 p. (in Russian).
12. Draminski W. Chromatographic determination of thiodiglycolic acid – a metabolite of vinyl chloride. *Archives of Toxicology*, 1981, vol. 48, pp. 289-292.
13. Chen Z.Y. Sensitive flame-photometric-detector analysis of thiodiglycolic acid in urine as a biological monitor of vinyl chloride. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 1983, vol. 82, pp. 281-284.
14. Cheng Tsun-Jen. Urinary thiodiglycolic acid levels for vinyl chloride monomer exposed polyvinyl chloride workers. *J. Occup. Environ. Med.*, 2001, vol. 43, no. 11, pp. 934-938.
15. Smagunova A.N. *Metody matematicheskoi statistiki v analiticheskoi khimii* [Methods of mathematical statistics in analytical chemistry]. Rostov na Donu: Feniks Publ., 2012. 346 p. (in Russian).
16. *RMG 61-2003. Pokazateli tochnosti, pravil'nosti, pretzionnosti metodik kolichestvennogo khimicheskogo analiza. Metody otsenki* [State system for ensuring the uniformity of measurement. Accuracy, trueness and precision measures of the procedures for quantitative chemical analysis. Methods of determination]. Ekaterinburg: UNIIM Publ., 2005. 38 p. (in Russian).
17. Kadis. R.L. [The uncertainty of measurement and chemical analysis]. *Zh. analiticheskoi khimii* [J. of Analytical Chemistry], 2008, vol. 63, no. 1, pp. 104-110 (in Russian).