

## Определение 1-пиренола в моче методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором

\*А.Н. Алексеенко, О.М. Журба, А.В. Меринов

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»,  
Российская Федерация. 665827, Ангарск, 12-а микрорайон, 3

Адрес для переписки: Алексеенко Антон Николаевич, e-mail: alexeenko85@mail.ru

Поступила в редакцию 1 октября 2019 г., после доработки – 25 октября 2019 г.

1-пиренол в моче принадлежит к биологическим маркерам экспозиции полиароматических углеводородов. Ряд методик определения 1-пиренола в моче обязательно включает ферментативный гидролиз, извлечение из биопробы, дериватизацию силилирующим агентом. Ферментативный гидролиз и силилирование занимают весьма продолжительное время: 16 часов и 40 минут соответственно. Предлагается менее продолжительный и более чувствительный вариант определения 1-пиренола в моче методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием. Для расщепления конъюгированной формы 1-пиренола (в виде глюкуронида) применяли ферментативный гидролиз  $\beta$ -глюкуронидазой в течение 1 часа. После ферментативного гидролиза аналит извлекали из биологической матрицы экстракцией гексаном с дальнейшим упариванием экстракта до сухого остатка в токе инертного газа. Оптимальные условия жидкостной экстракции устанавливали путём вариации соотношения – высаливающий агент : время экстракции : кратность экстракции. Сухой остаток перерастворяли и дериватизировали в силилирующим реагенте N,O-бис(триметилсилил) трифторацетамиде (БСТФА) в триметилсилиловый эфир при комнатной температуре в течение 5 мин. Анализ триметилсилильного экстракта осуществляли методом газовой хроматографии на капиллярной колонке HP-5MS с масс-селективным детектированием. Идентификацию аналита проводили по времени удерживания и соотношению основного и подтверждающего ионов. Высокое точное определение обеспечивалось за счёт использования внутреннего стандарта 1-пиренол- $d_9$ . Диапазон определяемых концентраций методики от 0.1 до 100 мкг/л. Повторяемость и внутривлабораторная прецизионность составили 4.4 % и 6.4 % соответственно. Систематическая погрешность оказалась незначимой. Точность составила 15 %. Метод апробировали на образцах мочи работников алюминиевого производства разных профессий.

**Ключевые слова:** 1-пиренол, моча, газовая хромато-масс-спектрометрия, ферментативный гидролиз, силилирование

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2019, vol. 23, no. 4, pp. 539-545

DOI: 10.15826/analitika.2019.23.4.007

## Determination of 1-pyrenol in urine by gas chromatography with mass selective detector

\*A.N. Alekseenko, O.M. Zhurba, A.V. Merinov

FSBSI East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research  
12-a district, 3, Angarsk, 665827, Russian Federation

Corresponding author: Anton N. Alekseenko, e-mail: alexeenko85@mail.ru

Submitted 01 October 2019, received in revised form 25 October 2019

Urinary 1-pyrenol belongs to the biological markers of exposure to the polyaromatic hydrocarbons. Several methods for the determination of 1-pyrenol in urine necessarily include enzymatic hydrolysis, extraction from the biological sample, and derivatization with the silylating agent. Enzymatic hydrolysis and silylation take very long time: 16 hours and 40 minutes respectively. A shorter and more sensitive version of the determination of 1-pyrenol in urine by gas chromatography with mass-selective detection is proposed. Enzymatic hydrolysis

with  $\beta$ -glucuronidase is used for 1h to digest the conjugated form of 1-pyrenol (as glucuronide). After the enzymatic hydrolysis, the analyte is extracted from the biological matrix by hexane extraction, followed by evaporation of the extract to dry residue in an inert gas stream. The optimum conditions for liquid extraction are established by varying the ratio of salting out agent : extraction time : extraction ratio. The dry residue is re-dissolved and derivatized in the silylating reagent N, O-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) into trimethylsilyl ether at room temperature for 5 minutes. The analysis of the trimethylsilyl extract is carried out by gas chromatography on HP-5MS capillary column with mass-selective detection. The analyte is identified by the retention time and the ratio of the main and confirming ions. The high-accuracy determination is ensured by using the internal standard 1-pyrenol- $d_9$ . The range of detectable concentrations of the method is from 0.1 to 100  $\mu\text{g/l}$ . Repeatability and interlaboratory precision are 4.4% and 6.4% respectively. The systematic error turns out to be insignificant. The accuracy is 14%. The method is tested on the urine samples of workers with the main professions in the aluminum production industry.

**Key words:** 1-pyrenol, urine, gas chromatography-mass spectrometry, enzymatic hydrolysis, silylation

## ВВЕДЕНИЕ

Для оценки воздействия полиароматических углеводородов (ПАУ) на организм человека наибольшее распространение получил биологический мониторинг их гидроксильных метаболитов, в особенности мониторинг 1-пиренола (1-гидроксипирена), являющегося метаболитом пирена [1–6]. В качестве анализируемого объекта используется моча.

Для определения 1-пиренола в моче применяют высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) с флуориметрическим детектором, газовую хроматографию с масс-селективным детектированием (ГХ-МС).

Методика ВЭЖХ включает в себя предварительный ферментативный гидролиз  $\beta$ -глюкуронидазой при 37 °С 16 часов, твёрдофазную экстракцию на сорбенте  $\text{C}_{18}$ , упаривание элюата в токе инертного газа, перерастворение в метаноле, ВЭЖХ анализ. Предел обнаружения 0.1 мкг/л, нижний предел количественного определения 2 мкг/л при объёме пробы 10 мл, относительное стандартное отклонение воспроизводимости ( $\text{СКО}_{\text{отн}}$ ) 13 % [7].

Главное преимущество метода газовой хроматографии с масс-селективным детектором (ГХ-МС) по сравнению с ВЭЖХ – это высокая эффективность и селективность разделения на колонке, а также возможность применения внутреннего стандарта 1-пиренол- $d_9$  [8, 9]. В случае метода ГХ-МС 1-пиренол, как и его дейтерированный аналог необходимо дериватизировать, так как наличие гидроксильной группы в молекуле аналита скажется на низкой летучести, следовательно, на низкой чувствительности определения. Наиболее распространены реагентами для дериватизации являются N,O-бис-триметилсилилтрифторацетамид (БСТФА) и метилтретбутилдиметилсилилтрифторацетамид (МТБСТФА) [10–12].

Методика ГХ-МС включает в себя следующие этапы: гидролиз  $\beta$ -глюкуронидазой при 37 °С в течение 16 часов, твёрдофазную экстракцию, концентрирование экстракта в токе азота, дериватизацию сухого остатка в БСТФА 40 минут при 60 °С, ГХ-МС анализ на капиллярной колонке в течение 40 минут. Предел обнаружения 0.5 мкг/л, предел количественного

определения 1 мкг/л, относительное стандартное отклонение воспроизводимости ( $\text{СКО}_{\text{отн}}$ ) 6.7–13 %.

Основными недостатками вышеупомянутых методик являются высокая продолжительность следующих стадий: ферментативный гидролиз, силилирование, а также низкая чувствительность при определении 1-пиренола у лиц, не работающих в условиях производства ПАУ, высокие значения относительного стандартного отклонения.

Цель исследования – разработать и апробировать методику определения 1-пиренола в моче методом ГХ-МС. Для достижения данной цели поставили следующие задачи: повышение чувствительности и точности определения, сокращение продолжительности пробоподготовки и газохроматографического измерения.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для реализации ГХ-МС анализа использовали газовый хроматограф 7890А с одноквадрольным масс-селективным детектором 5975С фирмы Agilent Technologies, оснащённый автоматическим пробоотборником 7693 и капиллярной колонкой HP-5MS (30 м, 0.25 мм, 0.25 мкм).

Модельные растворы 1-пиренола в моче, готовили добавлением аликвот растворов 1-пиренола в ацетонитриле в мочу условно здоровых лиц, не работающих на промышленных предприятиях. Перед пробоподготовкой в каждый стандартный раствор 1-гидроксипирена в моче вносили 20 мкл раствора внутреннего стандарта с концентрацией 5 мкг/мл.

При пробоподготовке применяли водяной термостат, мультвортекс, центрифугу модели 5804 Eppendorf и следующие реактивы: 1-пиренол (99.8 %), 1-пиренол- $d_9$  (98.8 %) как внутренний стандарт, раствор  $\beta$ -глюкуронидазы в воде Helix Pomatia H-2 (>85000 ед/мл), буферный раствор из уксусной кислоты и ацетата натрия с рН 5, магний сернокислый («х.ч.»), н-гексан для хроматографии, силилирующие реагенты БСТФА и МТБСТФА. Пробоподготовку и ГХ-МС анализ проводили по следующей схеме (рис. 1)

Градуировку осуществляли способом внутреннего стандарта по растворам 1-пиренола в моче в диапазоне от 0.1 до 100 мкг/л. Внутренним стандартом служил 1-пиренол- $d_9$ . Материалом для

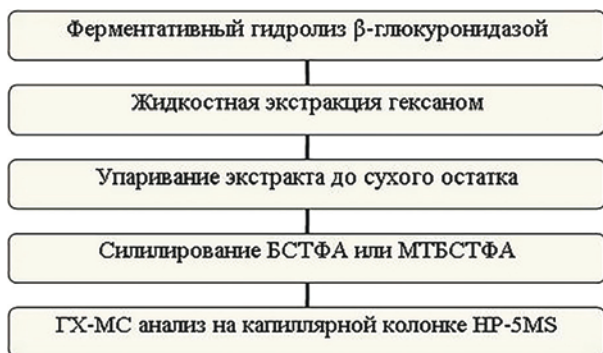


Рис.1. Схема определения 1-пиренола в моче методом ГХ-МС.

Fig.1. Scheme for the determination of 1-pyrenol in urine by GC-MS.

исследования биосред на содержание 1-пиренола послужили пробы мочи работников алюминиевого производства, отобранные во время медицинского осмотра на базе поликлиники данного предприятия.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Хромато-масс-спектрометрия.** Полученные производные 1-пиренола и 1-пиренола- $d_9$  после дериватизации двумя силилирующими реагентами БСТФА и МТБСТФА содержат триметилсилильную (ТМС) и третбутилдиметилсилильную группы (ТБДМС).

Хромато-масс-спектральные характеристики вышеупомянутых соединений приведены в табл. 1

Молекулярные ионы данных производных соответствуют молекулярной массе только в случае ТМС производных. В случае ТБДМС производных молекулярные ионы не самые интенсивные, что объясняется другой фрагментацией. Индексы удерживания (ИУ) оценены по смеси *n*-алканов  $C_{10} - C_{30}$ . Для ТБДМС дериватов значения ИУ больше чем ИУ ТМС дериватов, так как ТБДМС дериваты обладают большей молекулярной массой и поэтому дольше удерживаются на колонке. Тем не менее, разница времён удерживания ТМС и ТБДМС производных составляет 1.5 минуты. Также необходимо изменить условия проведения ГХ-МС анализа именно в плане уменьшения его продолжительности. Выбор другого режима температурного программирования и увеличение потока газа-носителя через колонку позволил существенно сократить время ГХ-МС измерения от 34 минут до 20 минут, а также уменьшить полуширину пика (табл. 2).

Рост скорости подъёма температуры и потока в колонке, а также уменьшение ступеней программирования привели к снижению времени удерживания и соответственно продолжительности газохроматографического процесса.

**Силилирование.** Изучили дериватизацию 1-пиренола двумя силилирующими реагентами БСТФА и МТБСТФА при двух температурах и разной

Таблица 1

Хромато-масс-спектральные характеристики 1-пиренола и 1-пиренола- $d_9$

Table 1

Chromato-mass spectral characteristics of 1-pyrenol and 1-pyrenol- $d_9$

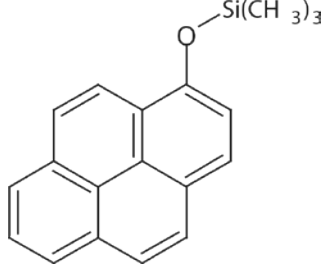
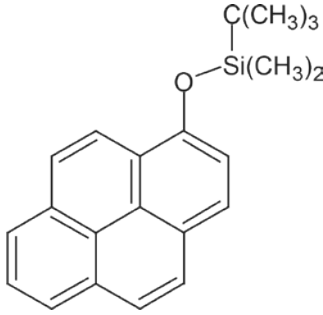
Производные	Структурная формула	Молекулярная масса	Характерные $m/z$	Индекс удерживания
1-пиренол-ТМС		290	290 (100 %), 275 (24 %)	2530
1-пиренол- $d_9$ -ТМС	1-Pyr- $d_9$ -OSi(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	299	299 (100 %) 284 (30 %)	2520
1-пиренол-ТБДМС		332	275 (100 %) 332 (74 %)	2820
1-пиренол- $d_9$ -ТБДМС	1-Pyr- $d_9$ -OSi(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	341	284(100 %) 341 (78 %)	2815

Таблица 2

Сравнение режимов ГХ-МС анализа ТМС и ТБДМС производных 1-пиренола

Table 2

Comparison of GC-MS analysis modes of TMS and TBDMS derivatives of 1-pyrenol

Температурная программа	60 °С с выдержкой 3 мин 10 °С/мин до 210 °С 5 мин 10 °С/мин 300 °С 2 мин		60 °С 2 мин, 15 °С/мин до 300 °С 2 мин	
Поток гелия в колонке, мл/мин	1		1.2	
Время удерживания производного 1-пиренола, мин	ТМС	ТБДМС	ТМС	ТБДМС
	25.55	27.85	16.79	18.31
Полуширина пика, с	2.2	2.1	1.5	1.4

продолжительности процесса: от 10 до 60 минут интервалом 10 минут (рис. 2).

Закономерная зависимость между относительными высотами отсутствует, так разброс между значениями высот носит случайный характер. Это объясняется тем, что температура и время реакции силилирования не оказывают значимого влияния на увеличение интенсивности сигнала деривата. Тем не менее, природа дериватирующего реагента и температура реакции оказывают своё влияние на величину разброса ( $СКО_{отн}$ ) значений высот пиков. Наименьший разброс получается в случае применения реагента БСТФА и при комнатной температуре 20 °С. Это объясняется, большей устойчивостью ТМС производных в сравнении с ТБДМС производными. Таким образом, с целью сокращения продолжительности пробоподготовки, дериватизацию 1-пиренола достаточно осуществлять реагентом БСТФА при температуре 20 – 25 °С не более 5 минут.

**Экстракция 1-пиренола из биологической матрицы.** К важным факторам жидкостной экстракции, влияющих на степень извлечения определяемых

веществ, следует отнести природу экстрагента, время экстракции, кратность экстракции, количество высаливающего агента. Экстрагентом служил гексан. В качестве высаливающего агента использовали сульфат магния. Опытным путём подбирали соотношение следующих факторов, влияющих на извлечение 1-пиренола из мочи: масса сульфата магния, время экстракции, число экстракций (табл. 3).

Большой вклад в степень извлечения вносит число экстракций, чем масса сульфата магния и время экстракции. Степень извлечения 1-пиренола выше при двукратной экстракции, вследствие увеличения концентрации определяемого вещества в гексановом экстракте. Отсюда следует, что увеличивать массу сульфата магния и время экстракции нет смысла.

**Ферментативный гидролиз.** Сопоставлены два варианта ферментативного гидролиза β-глюкуронидазой проб мочи работников алюминиевого производства (табл. 4). Значимое расхождение между концентрациями 1-пиренола отсутствует. Следовательно, ферментативный гидролиз β-глюкуронидазой

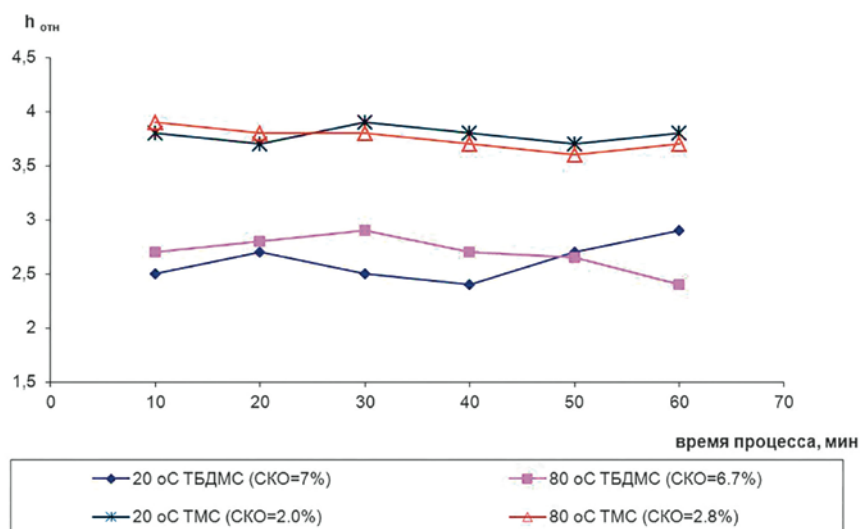


Рис. 2. Относительные высоты пиков ( $h_{отн}$ ) ТМС и ТБДМС дериватов 1-пиренола при разных значениях времени и температуры реакции силилирования.  $h_{отн}$  – относительное значение высоты пика ТМС-1-пиренола (отношение высоты пика ТМС-1-пиренола к ТМС-1-пиренол- $d_9$ ).

Fig. 2. Relative peak heights ( $h_{rel}$ ) of TMS and TBDMS derivatives of 1-pyrenol at different values of time and temperature of the silylation reaction.  $h_{rel}$  - the relative peak height of TMS-1-pyrenol (the ratio of the peak height of TMS-1-pyrenol to TMS-1-pyrenol- $d_9$ ).

Таблица 3

Выбор оптимальных условий экстракции 1-пиренола

Table 3

Selection of optimal conditions extraction for 1-pyrenol

№ опыта	Масса MgSO <sub>4</sub> , г	Время экстракции, мин	Число экстракций	Степень извлечения 1-пиренола
1	0	1	1	80
2	1	1	1	73
3	0	5	1	72
4	1	5	2	90
5	0.5	2	2	92
6	1	3	2	92

Таблица 4

Содержание 1-пиренола моче (мкг/л) в зависимости от продолжительности ферментативного гидролиза β-глюкуронидазой

Table 4

Contents of 1-pyrenol in urine (μg/l) depending on the duration of enzymatic hydrolysis with β-glucuronidase

№ образца мочи	Гидролиз при 37 °С в течение 16 ч	Гидролиз при 55 °С в течение 1 ч
1	0.5	0.6
2	1.2	1.5
3	2.7	2.9
4	2.4	2.5
5	34.5	39.0
6	0.83	0.96
7	0.31	0.35
8	22.3	25.0

Таблица 5

Метрологические характеристики определения 1-пиренола в моче

Table 5

Metrological characteristics of the determination of 1-pyrenol in urine

Ведённая концентрация 1-пиренола, мкг/л	Найденная концентрация 1-пиренола, мкг/л	СКО <sub>отн</sub> , %		t <sub>расч</sub>	Показатель точности, %
		Повторяемость	Внутрилабораторная прецизионность		
0.5	0.5	4.4	6.3	0.42	15
2	1.9	1.7	4.2	1.2	11
10	10.3	5.4	2.1	0.9	7.6
40	39.7	3.9	6.0	0.17	14
100	99.2	2.5	2.7	0.25	8

можно осуществлять менее продолжительным вариантом течение 60 мин при 55 °С.

**Метрологические характеристики.** Оценены метрологические характеристики в диапазоне концентраций 1-пиренола 0.1–100 мкг/л: повторяемость, внутрилабораторная прецизионность, правильность, точность [13].

Оценку проводили экспериментальным способом по образцам для оценивания (ОО), представляющих собой 5 образцов мочи с концентрациями 1-пиренола от 0.5 до 100 мкг/л. Каждый образец анализировали два раза в течение пяти дней. По результатам анализа рассчитали относительное среднее квадратичное отклонение повторяемости, внутрилабораторной прецизионности, значение t-критерия для оценки значимости систематической погрешности, показатель точности – характеристику суммарной погрешности методики (табл. 5). Как показывают результаты, систематическая погрешность не значима, так как  $t_{расч} < t_{таб}(0.95;4) = 2.8$ , СКО внутрилабораторной прецизионности не превышает 6.3 %, суммарная погрешность не выше 15 %.

Приведены масс-хроматограммы 3-х модельных смесей с разными концентрациями 1-пиренола (2, 10, 20 мкг/л) (рис. 3). Пик 1-пиренола острый,

симметричный, имеет полуширину 1.5 с, соседние пики не оказывают интерферирующего влияния.

**Апробация методики.** Методика ГХ-МС определения 1-пиренола в моче апробирована на образцах мочи работников производства алюминия. Полученные результаты содержания 1-пиренола в

Таблица 6

Результаты содержания 1-пиренола в моче работников алюминиевого производства

Table 6

Results of the content of 1-pyrenol determination in the urine of workers in aluminum production industry

Профессия	Число лиц	Содержание 1-пиренола в моче, мкг/л
Электролизники	44	15 ± 3
Анодчики	29	117 ± 20
Машинисты штыревого крана	37	19 ± 3
Группа сравнения	14	0.28 ± 0.07

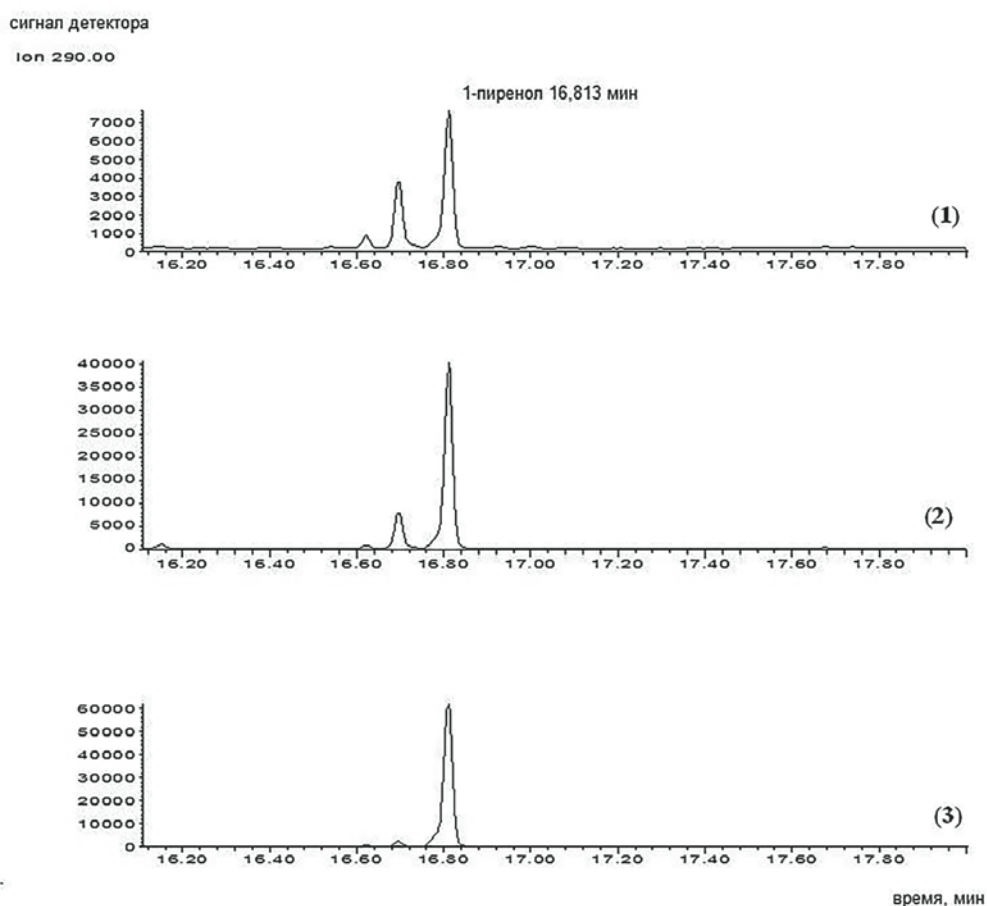


Рис. 3. Масс-хроматограммы модельных смесей 1-пиренола в моче (1) 2 мкг/л, (2) 10 мкг/л, (3) 20 мкг/л.  
 Fig. 3. Mass chromatograms of model mixtures of 1-pyreneol in urine (1) 2 µg/l, (2) 10 µg/l, (3) 20 µg/l.

моче оценивали относительно контрольной группы, которую составили 14 человек, не занятых в производстве алюминия. Результаты биомониторингового исследования содержания 1-пиренола в моче у работников данного производства представлены в табл. 6.

Как видно из таблицы уровни содержания 1-пиренола в моче работников алюминиевого производства были в 53–414 раз выше, чем в контрольной группе. Сравнение результатов между работниками разных профессий показало, что у анодчиков самый высокий уровень содержания 1-пиренола в моче, чем у лиц других профессий.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная ГХ-МС методика характеризуется меньшей продолжительностью анализа за счёт сокращения времени ферментативного гидролиза и дериватизации 1-пиренола. При использовании внутреннего стандарта 1-пиренола- $d_9$  достигается высокая точность определения, а вследствие увеличения степени экстракции из биологической матрицы повышается чувствительность определения. Данной методикой с пределом количественного определения 0.1 мкг/л определили концентрации 1-пиренола в

моче не только у работников производств алюминия, но и у лиц, не занятых в данном производстве.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Biological monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons metabolites in urine / F. Jongeneelen [at al.] // *Scand. J. Work Environ. Health*. 1986. V. 12. P. 137 – 143.
2. Boogaard P.J. Urinary biomarkers in the risk assessment of PAHs // *Occupational and Environmental Medicine*. 2008. V. 65. P. 221 – 222.
3. An assessment of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in the UK / J. Unwin [at al.] // *Annals of Occupational Hygiene*. 2006. V.50. P. 395 – 403.
4. Urinary 1-hydroxypyrene (1-HP) in environmental and occupational studies – A review / A.M. Hansen [at al.] // *International Journal of hygiene and environmental health*. 2008. V. 211. P. 471 – 503.
5. Jacob J. Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine // *J. of chromatography B*. 2002. V. 778. P. 31 – 47.
6. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbons and monohydroxy metabolites as biomarkers of exposure in coke oven workers / F. Rossella [at al.] // *Occup Environ Med*. 2009. V. 66. P. 509 – 516.
7. Jongeneelen F.J. Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine // *J. of Chromatography*. 1987. V. 413. P. 227 – 233.

8. Campo L. Development of a gas chromatography/mass spectrometry method to a quantify several urinary monohydroxy metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in occupationally exposed subjects // *J. of chromatography B*. 2008. V. 875. P. 531 – 540.
9. Shin H.S., Lim H.H. Simultaneous determination of 2-naphthol and 1-hydroxypyrene in urine by gas chromatography-mass spectrometry // *J. of chromatography B*. 2011. V. 879. P. 489 – 494.
10. Blau K., Halket J.M. Handbook of derivatives for Chromatography. 2nd ed. New-York: Wiley, 1993. 369 p.
11. Pierce A.E. Silylation of organic compounds: A Technique for Gasphase Analysis, Pierce chemical Co, 1968. 487p.
12. Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reaction of polar compounds prior to GC/MS analysis / Schummer C. [et al.] // *Talanta*. 2009. V.77. P. 1473 – 1482.
13. РМГ 61–2010. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. Екатеринбург, 2013. 60 с.
5. Jacob J., Seidel A. Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine. *J. of chromatography B.*, 2002, vol. 778, pp. 31 – 47.
6. Rossella F., Campo L., Pavanello S., Kapka L., Siwinska E., Fustinoni S. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbons and monohydroxy metabolites as biomarkers of exposure in coke oven workers. *Occup Environ Med.*, 2009, vol.66, pp. 509 – 516. doi: 10.1136/oem.2008.042796
7. Jongeneelen F.J., Anzion R.B., Henderson P.T. Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine. *J. of Chromatography*, 1987, vol.413, pp. 227 – 233. doi: 10.1016/0378-4347(87)80230-x
8. Campo L., Rossella F., Fustinoni S. Development of a gas chromatography/mass spectrometry method to a quantify several urinary monohydroxy metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in occupationally exposed subjects. *J. of chromatography B*, 2008, vol.875, pp. 531 – 540. doi: 10.1016/j.jchromb.2008.10.017
9. Shin H.S., Lim H.H. Simultaneous determination of 2-naphthol and 1-hydroxypyrene in urine by gas chromatography-mass spectrometry. *J. of chromatography B*, 2011, vol. 879, pp. 489 – 494. doi: 10.1016/j.jchromb.2011.01.009.
10. Blau K., Halket J.M. Handbook of derivatives for Chromatography. 2nd ed. New-York: Wiley, 1993. 369 p.
11. Pierce A.E. Silylation of organic compounds: A Technique for Gasphase Analysis, Pierce chemical Co, 1968. 487p.
12. Schummer C., Delhomme O., Brice M. R., Appenzeller; Wennig R., Millet M. Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reaction of polar compounds prior to GC/MS analysis // *Talanta*, 2009, vol. 77, pp. 1473 – 1482. doi:10.1016/j.talanta.2008.09.043
13. РМГ 61–2010. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки [Accuracy, trueness and precision measures of the procedures for quantitative chemical analysis. Methods of evaluation] Екатеринбург, 2013. 60 p. (in Russian)

## REFERENCES