

УДК 543.544.43

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТИЛ-ТРЕТ-БУТИЛОВОГО ЭФИРА
В КРОВИ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ
АНАЛИЗА РАВНОВЕСНОЙ ПАРОВОЙ ФАЗЫ
И ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ**

Зайцева Н.В., Уланова Т.С., Нурисламова Т.В., Попова Н.А., Мальцева О.А.
*ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками
здоровью населения», Пермь, e-mail: nurtat@fcrisk.ru*

Разработан современный инструментальный метод определения метил-трет-бутилового эфира в крови. В процессе исследований был выбран и обоснован метод анализа – капиллярная газовая хроматография; изучены и отработаны оптимальные параметры газохроматографического разделения метил-трет-бутилового эфира с сопутствующими углеводородами, пробоподготовки и количественного определения. Диапазон определяемых концентраций метил-трет-бутилового эфира в крови составил 0,0059–0,059 мг/л при погрешности 23,0%. Нижний предел количественного определения (LOQ) составил 0,00425 мг/л. Среднее значение степени извлечения метил-трет-бутилового эфира из крови при оптимальных условиях пробоподготовки составило $97,97 \pm 8,2\%$ ($n = 6$). В процессе выполнения идентификации метил-трет-бутилового эфира в образце крови установлено взаимное наложение нескольких индивидуальных пиков соединений-изомеров с совпадающими временами удерживания: 2-метилпентан, метил-трет-бутиловый эфир и 3-метил-пентан. Для улучшения и устранения недостаточного разрешения в исследованиях использовали специальные колонки, которые позволили разделить изомеры и метил-трет-бутиловый эфир в образце крови.

Ключевые слова: метил-трет-бутиловый эфир, капиллярная газовая хроматография, метод парофазного анализа, хромато-масс-спектрометрическая идентификация, масс-спектр

**METHYL TERTIARY BUTYL ETHER DETECTION IN BLOOD USING
HEADSPACE GAS CHROMATOGRAPHY ANALYSIS
AND CHROMATO-MASS-SPECTROMETRIC IDENTIFICATION**

Zaytseva N.V., Ulanova T.S., Nurislamova T.V., Popova N.A., Maltseva O.A.
*FBSI «Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies»,
Perm, e-mail: nurtat@fcrisk.ru*

Up-to-date instrumental approach for methyl tertiary butyl ether detection in blood has been devised. During the researches the analysis method – capillary gas chromatography has been selected and validated as well as optimum parameters of gas chromatographic separation of methyl tertiary butyl ether with coexisting hydrocarbons, quantitation and sample processing have been observed and tested. The range of detectable concentrations of methyl tertiary butyl ether in blood amounted to 0,0059–0,059 µg/ml with accuracy of 23,0%. The lower limit of quantitation (LOQ) amounted to 0,00425 µg/ml. The average value of recovery rate of methyl tertiary butyl ether from blood under the optimum conditions amounted to $97,97 \pm 8,2\%$ ($n = 6$). While performing identification of methyl tertiary butyl ether in blood sample, the overlap of several individual peaks of adhesions-isomers having identical holding periods: 2-methyl pentane, methyl tertiary butyl ether and 3-methyl-pentane, has been determined. To improve and eliminate insufficient resolution, special columns, that allowed separating of isomers and methyl tertiary butyl ether in blood sample, have been used.

Keywords: methyl tertiary butyl ether, capillary gas chromatography, headspace analysis method, chromat-mass-spectrometric identification, mass-spectrum

Метил-трет-бутиловый эфир (МТБЭ) используется как компонент автомобильных бензинов и служит в качестве кислородосодержащего, высокооктанового компонента при получении неэтилированных, экологически чистых бензинов. Введение метил-трет-бутилового эфира позволяет улучшить экологические свойства топлива, снижает содержание токсичных продуктов в выхлопных газах, увеличивая полноту сгорания углеводородов [1]. Вместе с тем многолетнее применение метил-трет-бутилового эфира в составе автомобильных бензинов показало, что он оказывает отрицательное влияние на здоровье человека. Исследованиями установлено, что при хроническом воздействии метил-трет-бутиловый эфир

вызывает такие заболевания, как астма, кратковременная потеря памяти, головная боль, раздражение кожи, оказывает слабое токсическое действие, угнетающее центральную нервную систему, обусловленное наркотическим эффектом [2]. Доказано, что ведущей системой-мишенью при хроническом воздействии в условиях производства МТБЭ является репродуктивная система мужчин [3].

В зарубежной литературе опубликовано значительное количество методов определения МТБЭ в биологических жидкостях, основанных на газовой хроматографии. Основные трудности определения МТБЭ в биологических объектах заключаются в высоком матричном эффекте, недостаточ-

ной селективности процедур пробоподготовки и необходимости использования дорогих стандартов меченных изотопов [$^2\text{H}_{12}$] МТБЭ и дорогостоящего оборудования, что невозможно для ежедневных рутинных анализов [6, 7, 8].

Также опубликованы статьи, касающиеся методов определения МТБЭ в крови, которые требуют длительной, продолжительной процедуры подготовки образцов крови к анализу, дополнительного оборудования и отличаются недостаточной селективностью, низкой чувствительностью и трудоемкостью выполнения [7].

В рамках данной работы предложена современная и доступная для практических исследований химико-аналитическая методика газохроматографического анализа равновесной паровой фазы с детектором ионизации в пламени (ДИП) и масс-спектрометрическим детектором для определения и идентификации МТБЭ в крови. Методика аттестована в соответствии с документом ГОСТ Р ИСО 5725-1-6:2002 и РМГ 61-2010 [4, 5].

Материалы и методы исследования

Реактивы и материалы. Для приготовления стандартных растворов и проведения пробоподготовки использовали метил-трет-бутиловый эфир квалификации «чистые вещества для хроматографии», содержание основного вещества 99,98%, CAS номер № 1634-04-4 (ООО «ХромЛаб», Москва); толуол квалификации «особой чистоты ос.ч 22-5», ТУ 2631-065-44493179-01, массовая доля основного вещества, %, не менее 99,5 (ЗАО «ЭКОС-1», Москва); серная кислота квалификации 11-5 особо чистая, ГОСТ 14262-78, массовая доля основного вещества 95,6%, CAS-номер № 7664-93-9 (ООО Компонент-Реактив, Москва).

Аппаратура. Работу выполняли на газовом хроматографе «Кристалл-5000» ЗАО СКБ «Хроматэк» с пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой длиной, состоящей из неполярной капиллярной колонки DB-624- 60 м×0,32 мм с толщиной пленки неподвижной жидкой фазы на внутренней поверхности капилляра 1,8 μm фирмы «Agilent» (США) и полярной HP-1 30 м×0,32 мм с толщиной пленки неподвижной жидкой фазы на внутренней поверхности капилляра 0,25 μm фирмы «Agilent» (США). Для исключения влияния изменений температуры и общего давления на точность анализа при количественных измерениях применяли технику пневматического парофазного дозирования биопроб в капиллярную колонку хроматографа дозатором DANI HSS 86.50 HEAD SPACE SAMPLER. Для исследования стабильности использовали холодильник BOSCH (от +5 до -20 °С) и морозильник микропроцессорный MM-180/20/35-Позис (от -20 до -40 °С).

Идентификация выполнена при использовании системы газовая хроматография – масс-спектрометрия (ГХ-МС). Хроматографическое разделение проводили на газовом хроматографе Agilent 7890А с использованием масс-селективного детектора 5975 С с квадрупольным масс-анализатором

и применением капиллярной колонки HP-VOC 60 м×0,2 мм×1,12 μm . Поиск характеристических ионов метил-трет-бутилового эфира выполняли с помощью банка библиотеки масс-спектральных данных NIST 08.L.

Приготовление стандартных растворов. Исходный стандартный раствор метил-трет-бутилового эфира с концентрацией 0,296 мг/мл готовили в мерной пробирке растворением 2 мм³ метил-трет-бутилового эфира в 5 мл толуола. Полученный раствор устойчив при температуре -15 °С, в течение 10 дней. Рабочий стандартный раствор метил-трет-бутилового эфира для градуировки с концентрацией 0,0592 мг/мл готовили в мерной пробирке растворением 1 мл исходного стандартного раствора в 4 мл толуола. Из рабочего стандартного раствора метил-трет-бутилового эфира для градуировки путем последовательного разбавления бидистиллированной водой готовили градуировочные растворы (0,00592, 0,01184, 0,0236, 0,0355, 0,0592 мг/л) и растворы для контроля качества QC (0,00592, 0,01184, 0,0296, 0,04736, 0,0592 мг/л).

Пробоподготовка. В вials объемом 20 мл помещали дозатором 5 мл крови, градуировочных растворов либо раствора QC, доводили pH образца до 2–3 с помощью 1% раствора серной кислоты. Вials закрывали алюминиевыми колпачками с септами и ставили в дозатор равновесного пара. По истечении 10 минут осуществляли автоматический отбор парогазовой пробы объемом 2 мл и ее ввод в хроматографическую колонку для определения метил-трет-бутилового эфира методом капиллярной газовой хроматографии.

Условия определения метил-трет-бутилового эфира методом капиллярной газовой хроматографии. На основании результатов предварительных экспериментальных исследований установлены оптимальные условия хроматографирования: составная капиллярная колонка; режим линейного программирования температуры колонки (начальная температура 50 °С, линейное программирование со скоростью 10 °С/мин, конечная температура колонки 200 °С). Газ-носитель азот расход = 32 мл/мин. Пробу в испаритель хроматографа вводили с делением потока азот:воздух 1:20. Температура испарителя 200 °С. Хроматограмма экстракта крови после извлечения стандартного раствора метил-трет-бутилового эфира при оптимальных параметрах хроматографического процесса представлена на рис. 1.

Условия хромато-масс-спектрометрической идентификации

В процессе эксперимента установлены оптимальные условия хромато-масс-спектрометрической идентификации метил-трет-бутилового эфира: масс-спектры, характеристические ионы ($m/z = 73, 57, 41$), время удерживания характеристического молекулярного иона (1,578 мин); режим хроматографа: температуры колонки (начальная температура 50 °С, линейное программирование со скоростью 10 °С/мин, конечная температура колонки 240 °С). Газ-носитель гелий расход = 20 мл/мин., деление потока гелий:воздух 1:20. Для получения воспроизводимости масс-спектров ионизацию молекул метил-трет-бутилового эфира проводили в газовой фазе методом электронного удара. Масс-хроматограмму (рис. 2) строили по полному ионному току и по характеристическим ионам метил-трет-бутилового эфира ($m/z 73,1; 57; 41$).

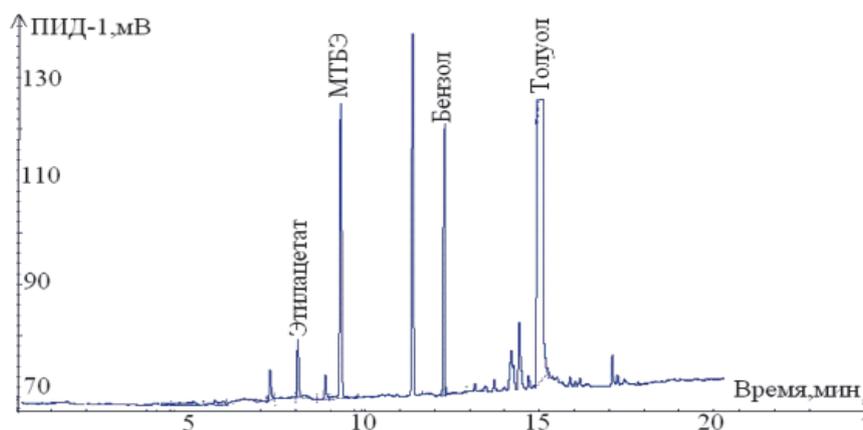


Рис. 1. Хроматограмма стандартного раствора метил-трет-бутилового эфира (0,116 мкг/мл) и мешающие соединения бензол ($c = 0,04$ мкг/мл), толуол ($c = 1,04$ мкг/мл).
Время удерживания метил-трет-бутилового эфира $9,7 \pm 0,02$ мин

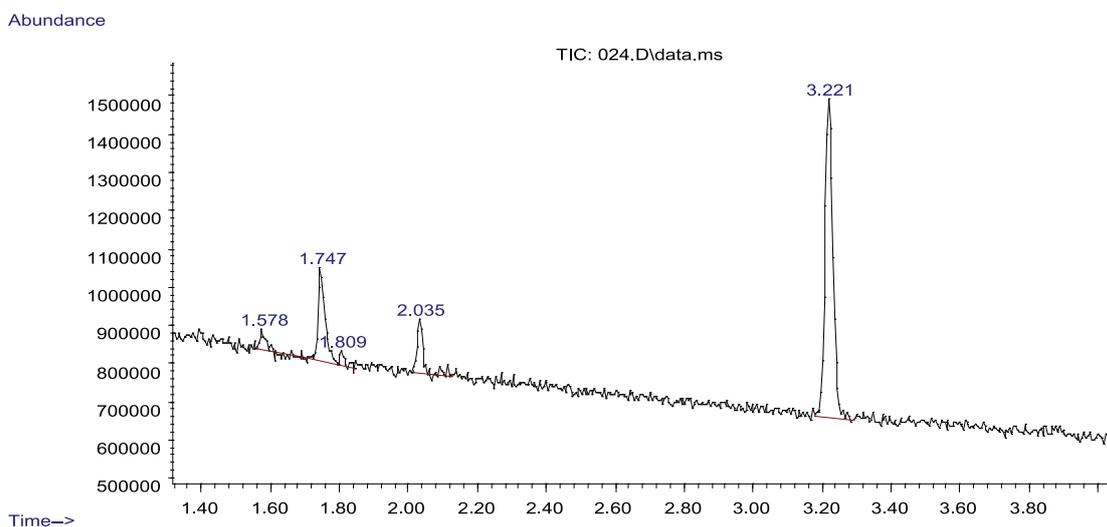


Рис. 2. Фрагмент хроматограммы по полному ионному току образца крови, содержащей метил-трет-бутиловый эфир (время удерживания 1,578 мин)

Индивидуальную идентификацию метил-трет-бутилового эфира в крови выполняли по параметрам удерживания (определено по градуировочным растворам) и путем сравнения характеристических ионов масс-спектров метил-трет-бутилового эфира с библиотечными масс-спектральными данными (рис. 3).

Наличие на масс-спектре пика с точно заданной массой (m/z 73) и определенным временем удерживания (1,57) для изучаемого соединения (МТБЭ) является весомым доказательством его присутствия в образце крови.

Аналитические характеристики методики. Оценку селективности и интерференций выполняли с использованием биологической матрицы путем анализа образцов крови 11 различных доноров. Критерий селективности составил 98%.

Чувствительность метода (LOQ) оценивали путем определения минимальной концентрации метил-трет-бутилового эфира в образце крови с заданной степенью точности, которая характеризуется

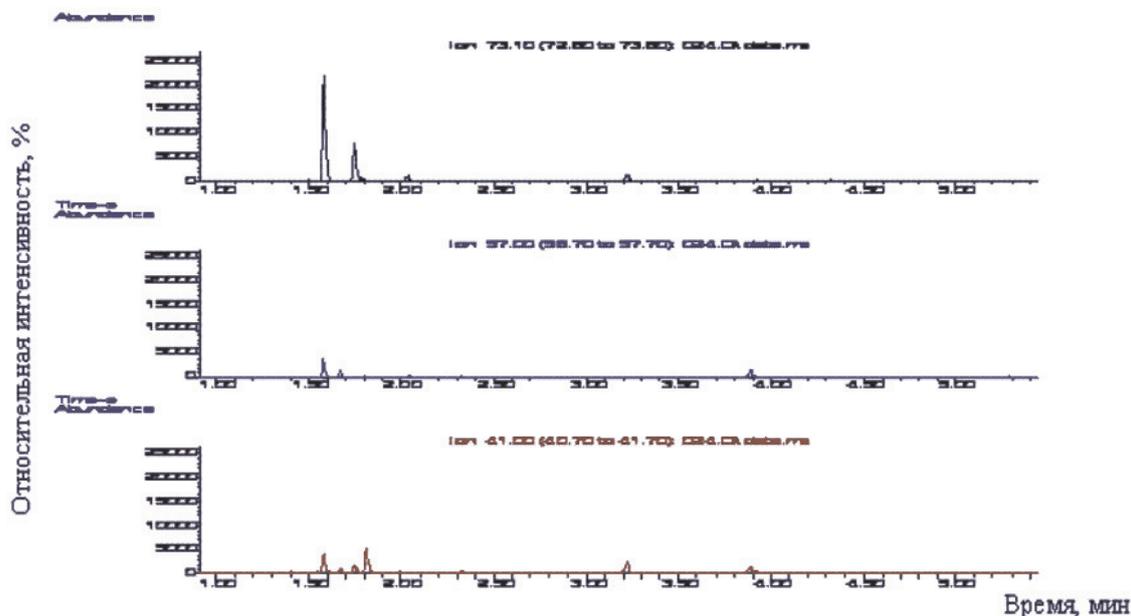
предельно допустимой величиной относительного стандартного отклонения не более 20% от предела количественного определения с **достоверностью 80–100%**. Для этого проводили эксперимент по внесению известных количеств аналитического стандарта метил-трет-бутилового эфира в образцы крови на уровне предела определения в 5 повторениях.

Степень извлечения метил-трет-бутилового эфира из крови определяли на трех уровнях концентраций (образцы QC) в 5 измерениях каждого уровня методом «введено-найдено». После этого вычисляли среднее значение степени извлечения.

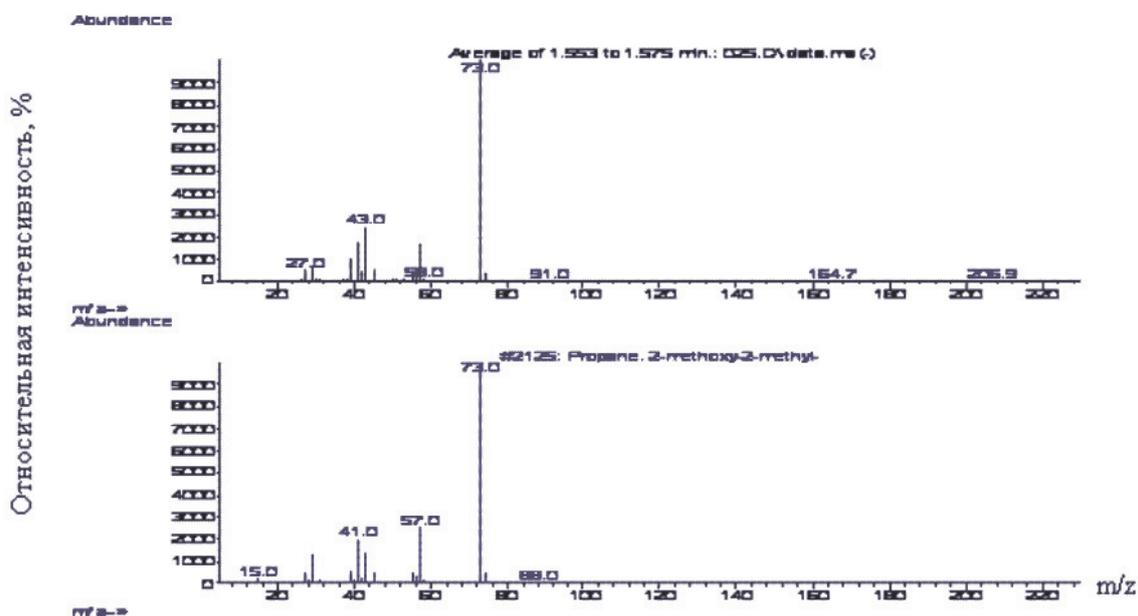
Точность (среднеквадратическое отклонение погрешности результатов анализа) и достоверность определяли также на трех уровнях концентраций образцов QC. Содержание определяемого вещества в полученных растворах находилось на нижней границе, верхней границе (75% от верхней точки линейного диапазона) и середине (50%) линейного диапазона методики. Проводили 5 измерений каждого уровня в течение 3 дней. Рассчитывали точность

и достоверность за один день (одна аналитическая серия) и за три дня (между тремя аналитическими сериями). Согласно критериям FDA и EMA [9, 10] значение среднеквадратического отклонения не превышало 15% для уровня концентраций, соответствующих пределу количественного определения и не более 20% для верхней границы диапазона. Досто-

верность рассчитывали как отношение среднего значения концентрации внутри одной или между тремя аналитическими сериями к истинному значению концентрации. Предельно допустимые значения достоверности составили 85–100,5% для нижней границы диапазона и 90,5–100,3% для остальных уровней концентраций.



а



б

Рис. 3. Масс-хроматограмма (а) и масс-спектр электронного удара (б) МТБЭ в образце крови

Стабильность концентрации метил-трет-бутилового эфира в биологической матрице оценивали при различных условиях хранения: при $T = +4^{\circ}\text{C}$, $T = +20^{\circ}\text{C}$ и $T = -24^{\circ}\text{C}$ в течение 7, 14, 20 и 30 дней и измерялась на верхнем и нижнем уровнях диапазона в параллельных пробах крови.

Матричный эффект оценивали путем анализа подготовленных образцов крови от 11 различных доноров с внесенными стандартными добавками метил-трет-бутилового эфира. Среднеквадратическое отклонение между образцами составило 14%.

Результаты исследования и их обсуждение

Хроматографическое определение метил-трет-бутилового эфира с пламенно-ионизационным детектированием. Для увеличения разрешения между аналитом (метил-трет-бутиловый эфир)

и матричными соединениями, улучшения формы пика изучены условия разделения на капиллярных колонках с различными характеристиками неподвижных жидких фаз – GasPro-25 $m \times 0,32 \text{ mm} \times 0,5 \mu\text{m}$, PoraPlot Q – 25 $m \times 0,53 \text{ mm} \times 0,5 \mu\text{m}$ и DB-624 50 $m \times 0,32 \text{ mm} \times 1,8 \mu\text{m}$. Хроматограммы представлены на рис. 4.

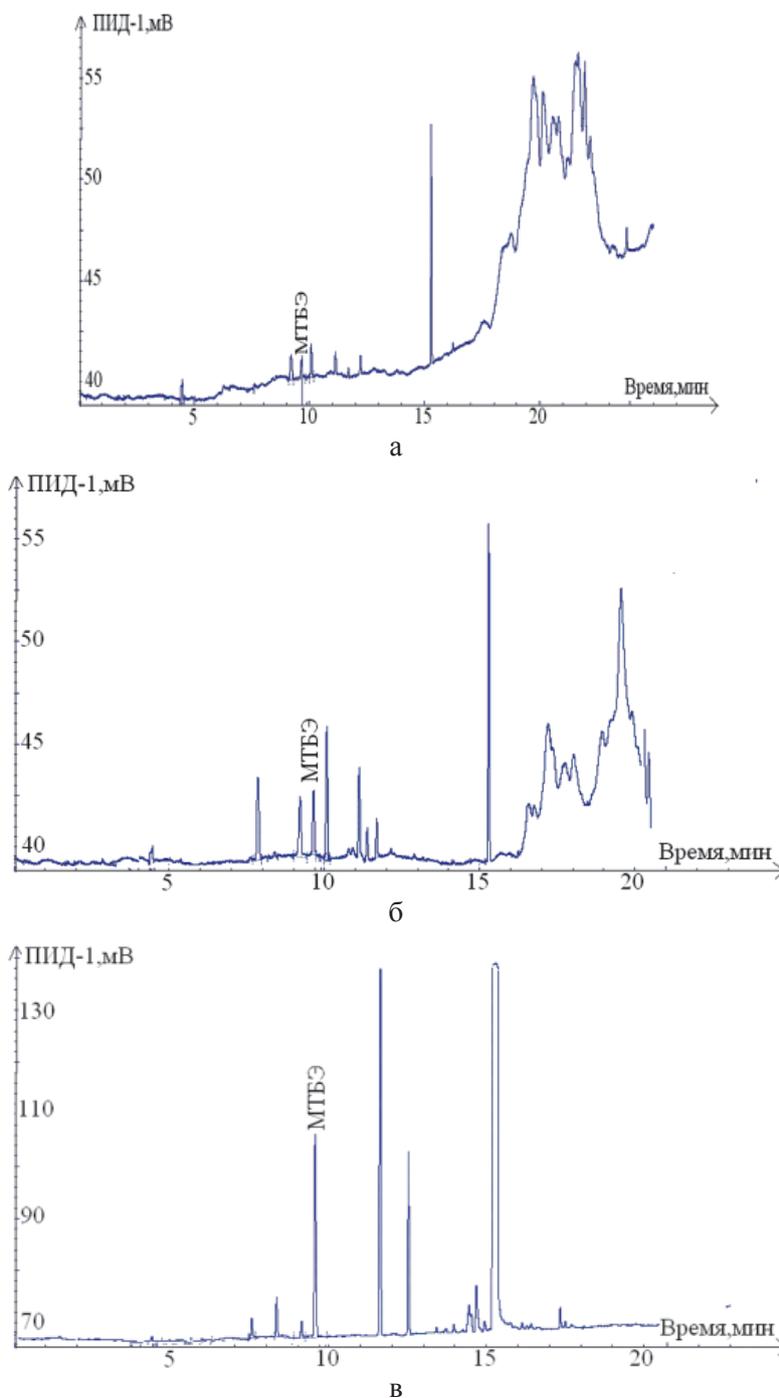


Рис. 4. Хроматограммы стандартного раствора метил-трет-бутилового эфира в крови, полученные на капиллярных колонках с различными неподвижными жидкими фазами: а – колонка PoraPlot Q – 25 $m \times 0,53 \text{ mm} \times 0,5 \mu\text{m}$; б – колонка GasPro – 25 $m \times 0,32 \text{ mm} \times 0,5 \mu\text{m}$; в – колонка DB-624 50 $m \times 0,32 \text{ mm} \times 1,8 \mu\text{m}$

Оптимальное разделение метил-трет-бутилового эфира с матричными компонентами достигнуто на капиллярной колонке серии DB-624 50 m×0,32 mm×1,8 μm. Для повыше-

ния чувствительности и оптимизации селективности определения варьировали температуру колонки, скорость нагревания, расход газа-носителя и деление потока (табл. 1).

Таблица 1

Газохроматографические параметры для эффективного разделения стандартного раствора метил-трет-бутилового эфира в крови

Режим	Температура, °C		Расход газа-носителя, мл/мин	Деление потока азот:воздух
	колонка	Скорость нагревания, °C/мин		
1	50–220	10	32	1:20
2	70–160–180	15	20	1:14
3	70–160–200	25	30	1:0

При температуре колонки в режиме линейного программирования 50–200°C со скоростью нагревания 10°C/мин, расходе газа-носителя 32 мл/мин и делении потока 1:20 не наблюдалось интерференций с компонентами матрицы.

Количественное определение метил-трет-бутилового эфира осуществляли

методом газохроматографического анализа равновесной паровой фазы. Нижний предел количественного определения метил-трет-бутилового эфира в газохроматографическом методе в сочетании с анализом равновесной паровой фазы с учетом условий пробоподготовки составил $C_{lim} = 0,00425$ мг/л (рис. 5).

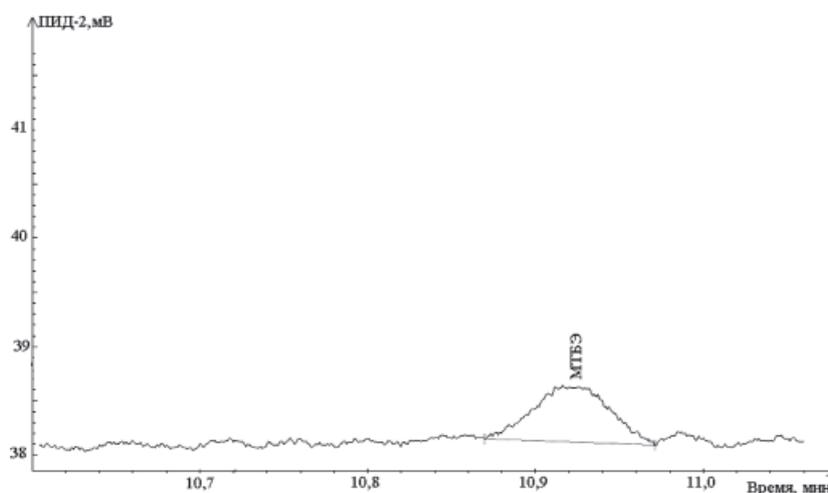


Рис. 5. Хроматограмма стандартного раствора метил-трет-бутилового эфира с концентрацией на уровне предела определения после извлечения из образца крови. Время удерживания составило $9,7 \pm 0,02$ мин

Среднеквадратическое отклонение при оценке матричного эффекта составило 3,3%, т.е. в предлагаемых условиях анализа эффект подавления или увеличения сигнала метил-трет-бутилового эфира не наблюдается.

Пробоподготовка крови к анализу. При отработке способа подготовки пробы крови к хроматографическому анализу исследованы различные условия процедуры экстракции: применение ряда органических кислот различной концентрации и времени встряхивания биопробы до установления в системе динамического равновесия. Подобраны различные условия проведения экстракции

(табл. 2) с высокими степенями извлечения метил-трет-бутилового эфира (90–98%).

В процессе экспериментальных исследований установлено, что высокая степень извлечения метил-трет-бутилового эфира из образцов крови при максимальной селективности достигнута с использованием 1% раствора серной кислоты (0,5 см³ кислоты на объем биопробы 5 см³) рН = 2–3, встряхивании биопробы в течение 5 мин в сочетании с газохроматографическим анализом равновесной паровой фазы, что позволяет исключить влияние матричного эффекта биосреды и обеспечивает полное извлечение аналита.

Таблица 2

Степень извлечения метил-трет-бутилового эфира из крови с использованием различных условий подготовки биосреды к анализу (концентрация, мг/л)

Условия извлечения			Степень извлечения, %
Концентрация серной кислоты, %	Введено	Найдено	
10	0,296 ± 0,031	0,274 ± 0,0137	92,57 ± 7,2
5	0,296 ± 0,033	0,205 ± 0,025	69,26 ± 6,0
1	0,296 ± 0,041	0,284 ± 0,032	95,95 ± 5,7
0,5	0,296 ± 0,019	0,209 ± 0,027	70,60 ± 6,4
Время встряхивания, мин	Введено	Найдено	
10	0,296 ± 0,033	0,289 ± 0,0198	97,60 ± 8,6
5	0,296 ± 0,041	0,290 ± 0,0276	97,97 ± 8,9
2	0,296 ± 0,019	0,285 ± 0,0312	96,28 ± 7,8

Среднее значение степени извлечения метил-трет-бутилового эфира из крови в данных условиях составило 97,97 ± 8,2% ($n = 6$). При использовании других неорганических (соляная 1% р-р, фосфорная 1% р-р) и органических кислот (щавелевая 1% р-р) полнота извлечения метил-трет-бутилового эфира из крови не превышала более 90%.

Линейный диапазон. В газохроматографическом методе анализа равновесной

паровой фазы использовали метод абсолютной градуировки. На каждом из 7 уровней концентраций метил-трет-бутилового эфира в диапазоне 0,00592–0,059 мкг/мл проводили по пять измерений. Градуировочный график линеен с коэффициентом корреляции 0,99, стандартное квадратическое отклонение не более 10%.

Точность и достоверность. Проанализированы три серии образцов QC, результаты приведены в табл. 3.

Таблица 3

Точность и достоверность определения метил-трет-бутилового эфира в крови газохроматографическим методом анализа равновесной паровой фазы

Введено, мг/л	Найдено, мг/л	Точность, %	Достоверность, %
Внутри одной аналитической серии			
0,0059	0,00593 ± 0,00044	5,9	100,5
0,0296	0,02970 ± 0,00081	2,2	100,3
0,059	0,05882 ± 0,00162	2,2	99,6
Между тремя аналитическими сериями			
0,0059	0,005 ± 0,00012	2,0	85,0
0,0296	0,0268 ± 0,00088	2,6	90,5
0,059	0,0552 ± 0,00162	1,8	93,6

Достоверность внутри аналитической серии изменялась от 99,6 до 100,5%, точность определения – от 1,8 до 5,9%, а между сериями – от 85 до 93,6% с точностью 1,8–2,6%.

Стабильность. Исследование стабильности результатов измерений метил-трет-бутилового эфира с концентрацией на верхнем уровне диапазона ($C = 0,059$ мг/л) и на нижнем уровне диапазона ($C = 0,0059$ мг/л) в пробах крови было выполнено путем проведения 5-кратного анализа биопроб при различных условиях хранения при $T = +4^\circ\text{C}$, $T = +20^\circ\text{C}$ и $T = -24^\circ\text{C}$ в течение 7, 20 и 30 дней. Относительная ошибка (%) результатов измерений была рассчитана сравнением определяемых концентраций

метил-трет-бутилового эфира в пробах крови при различных условиях хранения со стандартным раствором. Анализируемое соединение рассматривалось стабильным, если процент относительной ошибки средней концентрации был не выше 15%.

Данные стабильности показывают, что изменение концентрации метил-трет-бутилового эфира в пробах крови в процессе хранения относительно свежеприготовленных образцов в течение 30 дней при температуре $T = -24^\circ\text{C}$ не превышает допустимый предел 15%. При температуре $T = +4^\circ\text{C}$ концентрация метил-трет-бутилового эфира стабильна в течение 20 дней и при температуре $T = +24^\circ\text{C}$ в течение 7 дней с отклонением 15–18%.

Таблица 4

Стабильность метил-трет-бутилового эфира при различных условиях хранения

Условия	Отклонение от концентрации свежеприготовленного образца, %	
	0,0059 мг/мл	0,059 мг/мл
Хранение крови при $T = -24^{\circ}\text{C}$, 30 дней	6,0	5,0
Хранение крови при $T = +4^{\circ}\text{C}$, 20 дней	12,0	12,5
Хранение крови при $T = +20^{\circ}\text{C}$, 7 дней	18,2	15,0

Хромато-масс-спектрометрическая идентификация. В режиме полного сканирования 5 проб крови пациентов было установлено, что на масс-хроматограмме (рис. 6) пик со временем удерживания в диапазоне 1,567–1,615 мин является результатом взаимного наложения нескольких

индивидуальных пиков соединений-изомеров с совпадающими временами удерживания: 2-метилпентан (время удерживания 1,567 мин), метил-трет-бутиловый эфир (время удерживания 1,575 мин) и 3-метилпентан (время удерживания 1,615 мин).

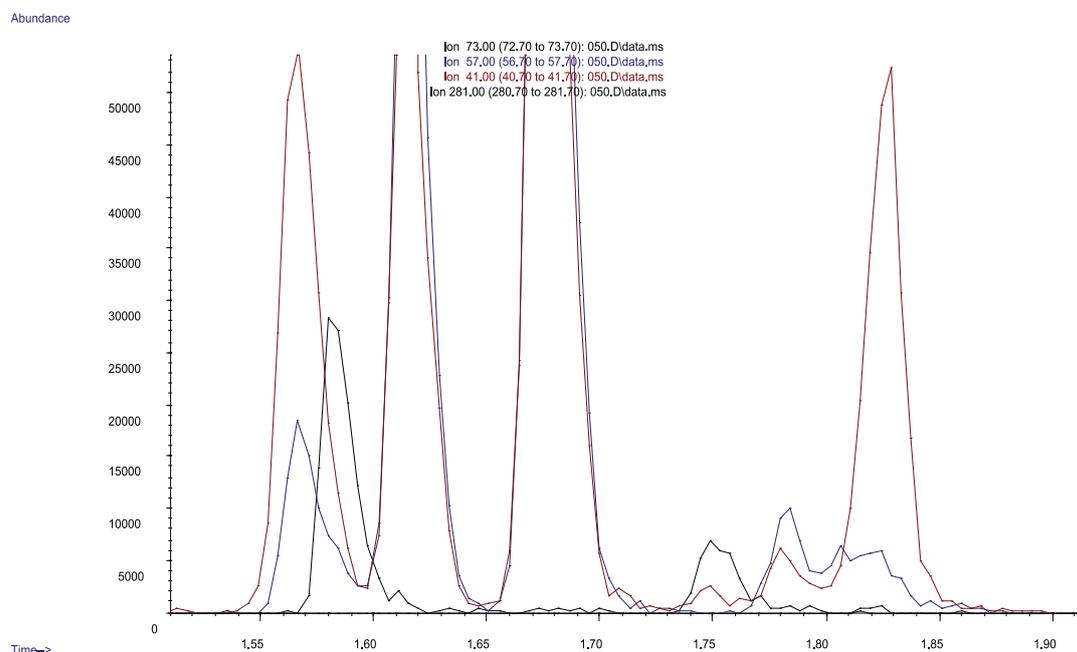


Рис. 6. Масс-хроматограмма образца крови

Для улучшения и устранения недостаточного разрешения в исследованиях использовали специальные колонки, которые позволили разделить изомеры и метил-трет-бутиловый эфир в образце крови. Применяли две последовательные ГХ колонки: неполярную с рабочей жидкой фазой на основе полиметилсилоксана DB-624 60 м×0,32 мм×1,8 μm и полярную на основе полиэтиленгликоля с высоким разрешением и низким пределом детектирования HP-1 30 м×0,32 мм×0,25 μm. При этих условиях на хроматограмме отсутствует пик, соответствующий изомерам 2-метилпен-

тан и 3-метилпентан. Время удерживания метил-трет-бутилового эфира при этих условиях составило 11,3 мин.

Заключение

Разработанный метод определения метил-трет-бутилового эфира в крови показал высокую селективность, чувствительность, стабильность и надежность, а также удовлетворительную точность. Метод соответствует критериям международного стандарта FDA и может быть использован для практического применения научными учреждениями, работающими в области

профпатологии и экологии человека, научно-исследовательскими институтами, занимающимися вопросами гигиены окружающей среды.

Предлагаемый метод с использованием газовой капиллярной хроматографии позволяет решить аналитическую проблему химических лабораторий, т.к. удовлетворяет требованиям чувствительности с применением недорогого оборудования.

Список литературы

1. Октаноповышающие и стабилизирующие оксигенатные добавки к бензинам, получаемые на основе полиолов из возобновляемого сырья. РАН, Информационный сборник «Важнейшие исследования и разработки научных учреждений РАН в 2011 году, готовые к практическому применению». Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН. – М/, 2012.
2. Сайфутдинов Р.Г., Трифонова Э.В. Острая токсичность метил-трет-бутилового эфира // Казанский медицинский журнал. – 2010. – № 3. – С. 351–353.
3. Овсянников А.А., Бачинский Р.О. Изучение особенностей гонадотоксического действия нитробензола и метил-третбутилового эфира в условиях холодного стресса // Успехи современного естествознания. – 2011. – № 8 – С. 124–125.
4. ГОСТ Р ИСО 5725-1-6-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».
5. РМГ 61-2010 «ГСОЕИ. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа».
6. Savolainen H., Pfaffli P., Elovaara E. Biochemical effects of methyl tertiary-butyl ether in extended vapor exposure of rats. Arch Toxicol. – 1985. – № 57(4). – P. 285–288.
7. Benin M.A., Ashley D.L., Cardinali F.L. Measurement of methyl tert-butyl ether and tert-Butyl Alcohol in human blood by purge and trap gas chromatography mass spectrometry using an Isotope dilution method // J Anal Toxicol. – 1995. – № 19. – P. 187–191.
8. Mannino D.M., Schreiber J., Aldous K. Human exposure to volatile organic compounds: A comparison of organic vapor monitoring badge levels with blood levels. Int Arch Occup Environ Health. – 1995. – № 67. – P. 59–64.
9. Guidance for Industry: Bioanalytical method validation. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 2001.
10. Guideline on validation of bioanalytical methods (draft). European Medicines Agency. Committee for medicinal products for human use. – London, 2009.

References

1. Oktanopovyshajushhie i stabilizirujushhie oksigenatnye dobavki k benzinam, poluchaemye na osnove polioloov iz vozobnovljaemogo syr'ja. RAN, Informacionnyj sbornik «Vazhnejshie issledovaniya i razrabotki nauchnyh uchrezhdenij RAN v 2011 godu, gotovyje k prakticheskomu primeneniju». Institut neftehimicheskogo sinteza im. A.V. Topchieva RAN. Moskva, 2012.
2. Sajfutdinov R.G., Trifonova Je.V. Ostraja toksichnost' metil-tret-butilovogo jefira // Kazanskij medicinskij zhurnal, 2010. no. 3. pp. 351–353.
3. Ovsjannikov A.A., Bachinskij R.O. Izuchenie osobenostej gonadotoksicheskogo dejstvija nitrobenzola i metiltretbutilovogo jefira v uslovijah holodovogo stressa // Uspеhi sovremennogo estestvoznaniya. 2011. no. 8 pp. 124–125.
4. GOST R ISO 5725-1-6-2002 «Tochnost' (pravil'nost' i precizionnost') metodov i rezul'tatov izmerenij».
5. RMG 61-2010 «GSOEI. Pokazateli tochnosti, pravil'nosti, precizionnosti metodik kolichestvennogo himicheskogo analiza».
6. Savolainen H, Pfaffli P, Elovaara E. 1985. Biochemical effects of methyl tertiary-butyl ether in extended vapor exposure of rats. Arch Toxicol 57(4):285–288.
7. Benin MA, Ashley DL, Cardinali FL. 1995. Measurement of methyl tert-butyl ether and tert-Butyl Alcohol in human blood by purge and trap gas chromatography mass spectrometry using an Isotope dilution method. J Anal Toxicol 19: 187–191.
8. Mannino DM, Schreiber J, Aldous K. 1995. Human exposure to volatile organic compounds: A comparison of organic vapor monitoring badge levels with blood levels. Int Arch Occup Environ Health 67:59–64.
9. Guidance for Industry: Bioanalytical method validation. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 2001.
10. Guideline on validation of bioanalytical methods (draft). European Medicines Agency. Committee for medicinal products for human use: London, 2009.

Рецензенты:

Шуров С.Н., д.х.н., профессор кафедры органической химии Пермского государственного национального исследовательского университета, г. Пермь;

Вайсман Я.И., д.м.н., профессор кафедры охраны окружающей среды Пермского национального исследовательского политехнического университета, г. Пермь.

Работа поступила в редакцию 28.05.2014.