

**4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Определение химических соединений  
в биологических средах**

**Сборник методических указаний  
МУК 4.1.763—4.1.779—99**

*Издание официальное*

**Минздрав России  
Москва • 2000**

УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный санитарный  
врач Российской Федерации

Г. Г. Онищенко

6 июля 1999 г.

Дата введения: 6 сентября 1999 г.

## Определение химических соединений в биологических средах

Сборник методических указаний  
МУК 4.1.763—4.1.779—99

### Область применения

Методические указания по определению концентраций химических веществ в биологических средах предназначены для использования в системе госсанэпиднадзора России, в лечебных и научных учреждениях, работающих в области профпатологии и экологии человека, научно-исследовательских институтах, занимающихся вопросами гигиены окружающей среды.

Методические указания разработаны с целью обеспечения контроля за содержанием химических соединений и металлов в различных биологических средах (кровь, моча, желчь, волосы, женское молоко) у населения, проживающего в районах с повышенным уровнем загрязнения окружающей среды.

В сборнике представлены 17 методик по измерению концентраций 30 химических веществ в биологических средах. Методики основаны на использовании физико-химических методов анализа – спектрофотометрии, потенциометрии, газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии, атомно-абсорбционной спектрофотометрии.

---

Издание официальное

Настоящие методические указания не могут быть полностью или частично воспроизведены, тиражированы и распространены без разрешения Департамента госсанэпиднадзора Минздрава России.

Анализируемые вещества относятся к различным классам соединений: неорганическим веществам, ароматическим углеводородам, спиртам, альдегидам, ароматическим аминам, фенолам.

Включенные в сборник методические указания разработаны в соответствии с требованиями ГОСТа 8.563—96 «Методики выполнения измерений», ГОСТа Р 1.5—92 «Общие требования к построению, изложению, оформлению и содержанию стандартов», МИ 2336—95 «Характеристики погрешности результатов количественного химического анализа. Алгоритмы оценивания», МИ 2336—96 «Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа».

Методические указания одобрены и рекомендованы комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Минздраве Российской Федерации.

УТВЕРЖДАЮ  
Главный государственный санитарный  
врач Российской Федерации  
Г. Г. Онищенко

6 июля 1999 г.

МУК 4.1.775—99

Дата введения: 6 сентября 1999 г.

#### 4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

### Определение содержания железа, цинка, никеля в желчи методом атомной абсорбции

Методические указания разработаны в соответствии с требованиями ГОСТа 8.563—96 «Методики выполнения измерений» и ГОСТа Р 1.5—92 «Общие требования к построению, изложению, оформлению и содержанию стандартов». Методика анализа метрологически аттестована и обеспечивает определение в желчи железа в диапазоне концентраций 0,10—1,5 мкг/см<sup>3</sup>, цинка — 1,00—5,0 мкг/см<sup>3</sup>, никеля — 0,50—2,5 мкг/см<sup>3</sup>.

#### ЖЕЛЕЗО (Fe)

Атом. масса — 55,85

Железо — серебристо-серый металл. Т<sub>плавл</sub> — 1539 °С, Т<sub>кип</sub> — 3200 °С, плотность — 7,87 г/см<sup>3</sup>. Реагирует с кислотами, с углеродом образует карбиды. Относится к 3 классу опасности.

#### ЦИНК (Zn)

Атом. масса — 65,37

Цинк — голубовато-серебристый металл. Т<sub>плавл</sub> — 419,5 °С, Т<sub>кип</sub> — 906,2 °С, плотность — 7,14 г/см<sup>3</sup>. Растворим в кислотах и щелочах. Относится к 3 классу опасности.

Издание официальное

Настоящие методические указания не могут быть полностью или частично воспроизведены, тиражированы и распространены без разрешения Департамента госсанэпиднадзора Минздрава России.

## НИКЕЛЬ (Ni)

Атом. масса – 58,71

Никель – серебристый металл.  $T_{\text{плав}} = 1453^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{\text{кип}} = 2140^{\circ}\text{C}$ , плотность – 8,9 г/см<sup>3</sup>. Растворим в воде за сутки 0,15 мг%. Растворим в разбавленных кислотах. Относится к I классу опасности.

**Сущность метода**

Методика основана на непосредственно прямом измерении содержания металлов в биологическом материале (желчи).

Определение элементов методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии основано на поглощении света соответствующей длины волны исследуемого элемента в высокотемпературном пламени.

Для измерения используется поглощение с длиной волны, соответствующей максимуму поглощения определяемого металла при прохождении через содержащий пары атомов металлов слой воздуха: железо – 248,3 нм, цинк – 213,9 нм, никель – 232,0 нм.

На одно элементоопределение в среднем затрачивается 7–10 мин, с учетом прогрева лампы и юстировки аппаратуры, при этом выполняется 3 параллельных измерения.

Методика обеспечивает выполнение измерений с суммарной погрешностью результата измерений не более 25 % при доверительной вероятности 0,95.

**Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы**

При выполнении применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы. Допускается применение других типов средств измерений, вспомогательного оборудования и химреактивов с аналогичными метрологическими характеристиками.

**Средства измерений**

Атомно-абсорбционные спектрофотометры  
C115-M, 2.851.034—04TO, Perkin Elmer 3110

ГОСТ 19491—74

Весы аналитические ВЛР-200

Колбы мерные вместимостью 100, 200, 250,  
500, 1000 см<sup>3</sup>

ГОСТ 1770—74

Пипетки, вместимостью 1, 5, 10 см<sup>3</sup>

ГОСТ 20297—74

Пробирки с пришлифованными пробками П 4-5-14/23	ГОСТ 1770—74
Государственные образцы стандартов (ГСОРМ) ГСОРМ-24—1 мкг/см <sup>3</sup>	ГСО 4146—97

*Вспомогательные устройства*

Редуктор ацетиленовый ДАП-1—65	ГОСТ 5.1381—72
Аппарат для бидистилляции воды БД-06	ТУ 25—11—43—69
Сушильный шкаф ШСС-80	ГОСТ 13474—70
Холодильник для хранения проб	
Воронки диаметром 2 и 5 см	
Фильтры беззольные белая лента	

*Материалы*

Баллон для ацетилена	ГОСТ 949—73
----------------------	-------------

*Реактивы*

Хлороформ	ГОСТ 20015—74
Кислота азотная концентрированная, осч.	ГОСТ 4461—77

**Требования к безопасности**

Помещение для проведения измерений должно соответствовать требованиям «Пожарных норм проектирования зданий и сооружений» (СНиП ПА-5-700) и «Санитарных норм проектирования промышленных предприятий» (СН-245-71) и СНиП-74.

При выполнении работ должны быть соблюдены меры противопожарной безопасности в соответствии с требованиями ГОСТа 12.1.004—85 и правила техники безопасности в соответствии с ГОСТом 12.1.007—76.

При работе необходимо соблюдать «Правила по технике безопасности и производственной санитарии при работе в химических лабораториях», утверждены МЗ СССР 20.12.82 (М., 1981), и «Правила устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением», утверждены Госгортехнадзором СССР 27.11.87 (М.: Недра, 1989).

При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТу 12.1.005—88.

При выполнении измерений на приборе соблюдают правила, указанные в «Руководстве по правилам эксплуатации спектрофотометра».

### Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений допускаются лица, прошедшие обучение по работе на атомно-абсорбционном спектрофотометре. К обслуживанию допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже инженера КИП и А, прошедшие инструктаж по технике безопасности на рабочем месте и ознакомленные с правилами обслуживания спектрофотометра.

### Условия измерений

При проведении процессов приготовления растворов и подготовки проб к анализу соблюдают следующие условия:

- температура воздуха  $(20 \pm 10)^\circ\text{C}$ ;
- атмосферное давление 630—800 мм рт. ст.;
- влажность воздуха не более 80 % при температуре  $25^\circ\text{C}$ .

Выполнение измерений на атомно-абсорбционных спектрофотометрах С115-М и Perkin Elmer 3110 проводят в условиях, рекомендуемых технической документацией по приборам.

### Подготовка к выполнению измерений

Перед выполнением измерений проводят следующие работы: подготовка атомно-абсорбционного спектрофотометра, приготовление стандартных растворов, построение калибровочной кривой.

### Приготовление стандартных смесей

Для приготовления заданных концентраций стандартных растворов исследуемых металлов при измерении проб желчи используется бидистиллированная вода. Основной стандартный раствор готовят из стандартного образца с концентрацией по металлу 1,05—0,95 г/см<sup>3</sup> путем разведения 0,1 ННО<sub>3</sub> в мерной колбе вместимостью 100 см<sup>3</sup>. Для приготовления рабочих стандартных растворов в каждую колбу вносят основной стандартный раствор с концентрацией по металлу 5 мкг/см<sup>3</sup> в количестве, соответствующим таблице. Срок хранения – 3 дня.

Таблица

Стандартные смеси для установления градуировочной характеристики при определении концентрации железа, цинка и никеля (фрагмент шкалы)

Номер смеси для градуировки	1	2	3	4
Объем исходной стандартной смеси (5 мкг/см <sup>3</sup> ), см <sup>3</sup>	2	5	10	20
Содержание металла, мкг/см <sup>3</sup>	0,10	0,25	0,50	1,00

### Подготовка прибора к анализу

Атомно-абсорбционный спектрофотометр обеспечивается ацетиленом, сжатым воздухом, набором спектральных ламп, образцами стандартных растворов определяемых металлов и выводится на рабочий режим согласно инструкции. В качестве нулевого раствора используется 0,1 н HNO<sub>3</sub>.

### Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику устанавливают методом абсолютной градуировки на градуировочных смесях растворов металлов. Она выражает зависимость величины абсорбции от концентрации (мкг) и строится по 4 сериям стандартных растворов. Каждую серию, состоящую из 4 стандартных растворов, готовят непосредственно перед использованием путем разведения из основного стандартного раствора.

### Отбор проб

Отбор проб желчи производится в стерильную химически чистую посуду при дуодональном зондировании. Для анализа берется порция С (печеночная) в объеме 5 см<sup>3</sup> в химически чистую пробирку с пришлифованной пробкой. С целью консервирования пробы в пробирку с желчью вносится 0,05 см<sup>3</sup> хлороформа. Пробы могут хранится в холодильнике в течение 3 суток.

### Выполнение измерений

Измерение концентрации металлов в желчи производится прямым определением. Результаты измерений концентраций металлов регистрируют по показаниям прибора с цифровой индикацией, откалиброванного согласно рабочим стандартным растворам определяемого металла, и представляют в протоколе в виде:

$$X_{cp} \pm 0,25 \cdot X_{cp}, \text{ мкг/см}^3, \text{ где}$$

$X_{cp}$  – среднее значение замеренных концентраций.

## Внутренний оперативный контроль

Внутренний оперативный контроль качества результатов контрольного химического анализа (сходимость, воспроизводимость, точность) осуществляют с целью получения оперативной информации о качестве анализов и принятия при необходимости оперативных мер по его повышению (МИ 2335—95).

### Оперативный контроль воспроизводимости

Периодичность контроля воспроизводимости измерения зависит от количества рабочих измерений за контролируемый период и определяется планами контроля.

Образцами для контроля являются представительные пробы. Отбирают 2 пробы желчи и каждую из них анализируют в точном соответствии с прописью методики, максимально варьируя условия проведения анализа, т. е. получают 2 результата анализа, используя разные наборы мерной посуды, разные партии реагентов и разные экземпляры ГСО для градуировки прибора. В работе должны участвовать 2 аналитика.

Результаты контроля признаются удовлетворительными, если выполняется условие:

$$|\bar{X}_1 - \bar{X}_2| \leq 0,01D \cdot \bar{X}, \text{ где}$$

$\bar{X}_1$  – результат анализа рабочей пробы, мкг/см<sup>3</sup>;

$\bar{X}_2$  – результат анализа этой же пробы, полученной другим аналитиком с использованием другого прибора, другой мерной посуды и другой партии реагентов, мкг/см<sup>3</sup>;

$D$  – допустимые расхождения между результатами анализа одной и той же пробы, % ( $D = 25\%$ ).

При превышении норматива оперативного контроля воспроизводимости эксперимент повторяют. При повторном превышении указанного норматива  $D$  выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля, и устраняют их.

### Оперативный контроль точности

Периодичность контроля погрешности измерений зависит от количества рабочих измерений за контролируемый период и определяется планами контроля.

Образцами для контроля являются представительные пробы биосред, к которым делаются добавки в виде раствора. Отбирают

2 пробы и к одной из них делают добавку в виде раствора таким образом, чтобы их содержание увеличилось по сравнению с исходным на 50—150 %. Каждую пробу анализируют в точном соответствии с прописью методики и получают результат анализа исходной рабочей пробы  $X$  и рабочей пробы с добавкой  $X'$ . Результаты анализа исходной рабочей пробы  $X$  и рабочей пробы с добавкой  $X'$  получают не по возможности, а в одинаковых условиях, т. е. их получает один аналитик с использованием одного набора мерной посуды, одной партии реагентов и т. д.

Результаты контроля признаются удовлетворительными, если выполняется условие:

$$|X' - X - C| < K_d, \text{ где}$$

$C$  — добавка к пробе в виде раствора с концентрацией  $\text{мкг}/\text{см}^3$ ;  
 $K_d$  — норматив оперативного контроля погрешности,  $\text{мкг}/\text{см}^3$ .

При внешнем контроле ( $P = 0,95$ ) принимают

$$K_d = \sqrt{\Delta_{x'}^2 + \Delta_x^2}, \text{ где}$$

$\Delta_{x'}$  и  $\Delta_x$  — характеристики погрешностей для исходной пробы и пробы с добавкой,  $\text{мкг}/\text{см}^3$ .

$$\Delta_{x'} = 0,165 \cdot X' \text{ и } \Delta_x = 0,165 \cdot X$$

При внутрилабораторном контроле ( $P = 0,90$ ) принимают, что

$$K'_d = 0,84 \cdot K_d$$

При превышении оперативного контроля погрешности эксперимент повторяют. При повторном превышении указанного норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля, и их устраняют.

## Приложение А

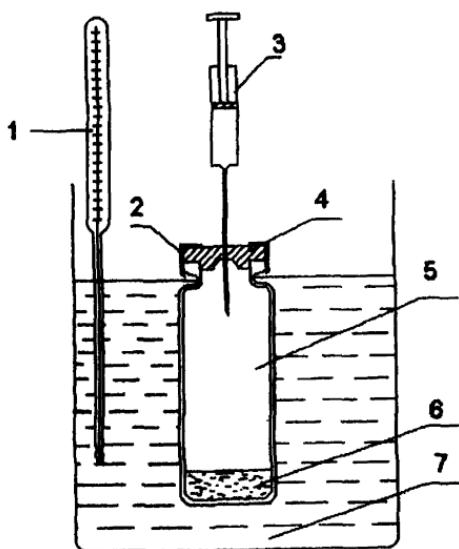


Рис. 1. Установка для создания равновесной паровой фазы.  
1 – термометр; 2 – накидная гайка; 3 – шприц; 4 – резиновая мембрана;  
5 – равновесный сосуд; 6 – проба; 7 – термостатируемая жидкостная баня.

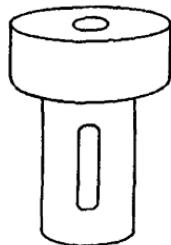
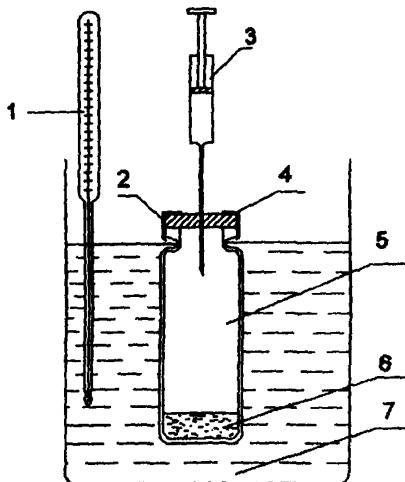


Рис. 2. Стакан с навинчивающейся крышкой для  
фиксации пробки на фляконе.

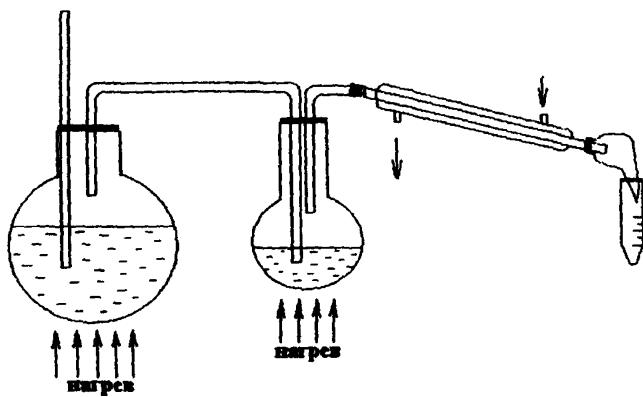
## Приложение Б



Прибор для анализа равновесной паровой фазы:

1 – термометр; 2 – накидная гайка; 3 – шприц; 4 – резиновая мембрана;  
5 – равновесный сосуд; 6 – проба; 7 – термостатируемая жидкостная баня

## Приложение В



Установка для перегонки с водяным паром