

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 4.1.776—99

Дата введения: 6 сентября 1999 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение содержания железа, цинка,
никеля, меди и хрома в волосах
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 волосах железа в диапазоне концентраций 2,50—15,0 мкг/г, цинка — 50,00—150,0 мкг/г, никеля — 1,00—5,0 мг/г, меди — 1,00—5,0 мг/г, хрома — 1,00—6,0 мг/г.

ЖЕЛЕЗО (Fe)

Атом. масса — 55,85

Железо — серебристо-серый металл. $T_{\text{плавл}} - 1539^\circ\text{C}$, $T_{\text{кип}} - 3200^\circ\text{C}$, плотность — $7,87\text{ г/см}^3$. Реагирует с кислотами, с углеродом образует карбиды. Относится к 3 классу опасности.

ЦИНК (Zn)

Атом. масса — 65,37

Цинк — голубовато-серебристый металл. $T_{\text{плавл}} - 419,5^\circ\text{C}$, $T_{\text{кип}} - 906,2^\circ\text{C}$, плотность — $7,14\text{ г/см}^3$. 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. $T_{\text{плавл}} - 1453^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{кип}} - 2140^{\circ}\text{C}$, плотность – $8,9 \text{ г/см}^3$. Растворим в воде за сутки $0,15 \text{ мг\%}$. Растворим в разбавленных кислотах. Относится к 1 классу опасности.

МЕДЬ (Cu)

Атом. масса – 63,55

Медь – розовый или красноватый металл. $T_{\text{плавл}} - 1083^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{кип}} - 2543^{\circ}\text{C}$, плотность – $8,93 \text{ г/см}^3$. Растворим в HNO_3 и в горячей концентрированной H_2SO_4 . Порошкообразная медь растворяется в $0,3 \text{ \%-ном}$ растворе HCl и в желудочном соке. Относится к 3 классу опасности.

ХРОМ (Cr)

Атом. масса – 51,99

Хром – твердый блестящий металл. $T_{\text{плавл}} - 1890^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{кип}} - 2480^{\circ}\text{C}$, плотность – $6,92 \text{ г/см}^3$. Химически малоактивен. При обычных условиях устойчив к кислороду и влаге. Царская водка и HNO_3 пассивируют хром. Относится к 3 классу опасности.

Сущность метода

Методика основана на измерении содержания металлов в биологическом материале (волосах), после соответствующей подготовки проб биоматериала.

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: железа – $248,3 \text{ нм}$, цинк – $213,9 \text{ нм}$, никель – $232,0 \text{ нм}$, медь – $324,4 \text{ нм}$, хром – $357,9 \text{ нм}$.

На одно элементопределение в среднем затрачивается 7–10 мин, с учетом прогрева лампы и юстировки аппаратуры, при этом выполняется 3–5 параллельных измерений.

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 | |
| Весы аналитические ВЛР-200 | ГОСТ 19491—74 |
| Колбы мерные вместимостью 100, 200, 250, 500, 1000 см ³ | ГОСТ 1770—74 |
| Пипетки вместимостью 1, 5, 10 см ³ | ГОСТ 20297—74 |
| Пробирки с пришлифованными пробками П 4-5-14/23 | ГОСТ 1770—74 |
| Государственные образцы стандартов (ГСОРМ). ГСОРМ-24 – 1 мкг/см ³ | 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 обеззоленные белая лента | |

Материалы

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

Реактивы

| | |
|---|----------------|
| Перекись водорода | ГУ 6—02—570—75 |
| Кислота азотная концентрированная, осч. | ГОСТ 4461—77 |
| Спирт этиловый 96 %-ный | ГОСТ 5962—67 |
| Эфир диэтиловый, мед. | ОСТ 84006—86 |

Требования к безопасности

Помещение для проведения измерений должно соответствовать требованиям «Пожарных норм проектирования зданий и сооруже-

ний» (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 прибору.

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 концентрации металлов в пробах волос используется бидистиллированная вода. Основной стандартный раствор готовят из стандартного образца с концентрацией по металлу 1,05—0,95 мг/см³ путем разведения 0,1 н HNO₃ в мерной колбе вместимостью 100 см³. Для приготовления рабочих стандартных растворов в каждую колбу вносят основной стандартный раствор с концентрацией по металлу 5 мкг/см³ в количестве, соответствующем таблице. Срок хранения — 3 дня.

Таблица

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

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

Подготовка прибора к анализу

Атомно-абсорбционный спектрофотометр обеспечивается ацетиленом, сжатым воздухом, набором спектральных ламп, набором стандартных растворов определяемых металлов и выводится на рабочий режим согласно инструкции. В качестве нулевого раствора используется 0,1 н HNO₃.

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

Пробы волос отбирают с затылочной части головы, где рост волос наиболее интенсивен. Волосы срезают от корней, длиной не более 3 см. Оптимальная навеска волос для анализа – 150—200 мг. Волосы укладывают в маркированные бумажные пакеты. Пробы выдерживают длительное хранение.

Выполнение измерений

Измерение концентрации металлов в волосах производится после подготовки пробы к анализу. Отобранные пробы волос выдерживают в смеси этилового спирта и диэтилового эфира в соотношении 1 : 1 с целью очистки, промывают и высушивают при температуре 80 °С. Очищенные пробы хранят в эксикаторе. Навески волос помещают в маркированные пробирки и приливают смесь азотной кислоты и перекиси водорода в соотношении 3 : 1. Пробы растворяют в течение суток. Проводят замер объема пробы после полного растворения волос и регистрируют в журнале. Параллельно готовится фоновый раствор: смесь HNO_3 и H_2O_2 в соотношении 3 : 1. Результаты измерений концентраций металлов регистрируют по показаниям прибора с цифровой индикацией, откалиброванного согласно концентрациям рабочих стандартных растворов определяемого металла, с вычетом значения фоновой концентрации, и представляют в протоколе. Точность настройки прибора проверяется введением стандартного образца с заданной концентрацией через каждые пять проб, в случае необходимости осуществляется перекалибровка. 25 % исследуемых проб выполняются с внутренним контролем.

Расчет концентраций содержания металлов в волосах проводят по формуле:

$$C = \frac{a \cdot V}{m}, \text{ где}$$

a – концентрация, определяемая по калибровочному графику с вычетом фонового значения, мкг/см³,

V – общий объем анализируемой пробы, см³,

m – навеска волос, взятых для анализа, г,

C – концентрация металла в пробе волос, мкг/г.

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 мочи 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 реактивов 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/см³;

\bar{X}_2 – результат анализа этой же пробы, полученной другим аналитиком с использованием другого прибора, другой мерной посуды и другой партии реактивов, мкг/см³;

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 реактивов 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 мкг/см^3 ;
 K_d – норматив оперативного контроля погрешности, мкг/см^3 .

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

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

Δ_x^2 и $\Delta_x'^2$ – характеристики погрешностей для исходной пробы и пробы с добавкой, мкг/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.

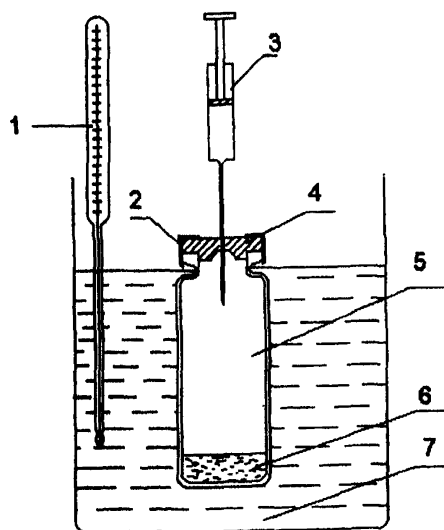


Рис. 1. Установка для создания равновесной паровой фазы.
 1 – термометр; 2 – накидная гайка; 3 – шприц; 4 – резиновая мембрана;
 5 – равновесный сосуд; 6 – проба; 7 – термостатируемая жидкостная баня.

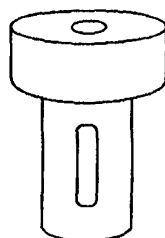
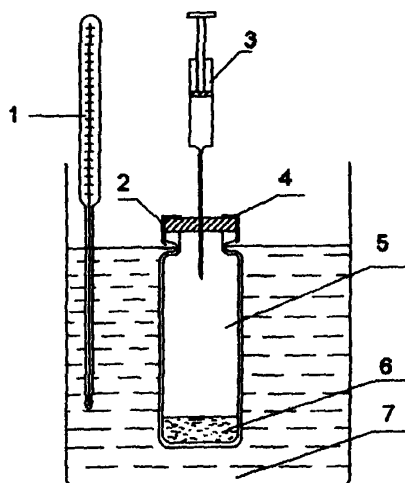


Рис. 2. Стакан с навинчивающейся крышкой для фиксации пробки на флаконе.

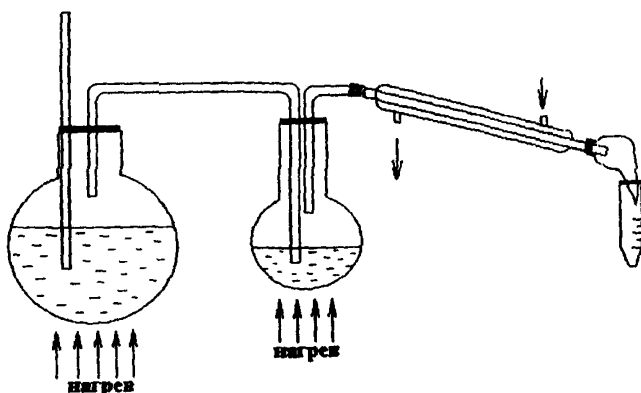
Приложение Б



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