Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение массовой концентрации алюминия в биологических средах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

Методические указания
МУК 4.1.3589—19

Издание официальное

Москва • 2020

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение массовой концентрации алюминия в биологических средах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

Методические указания
МУК 4.1.3589—19

ББК 51.244
И37

И37 **Измерение** массовой концентрации алюминия в биологических средах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020.—22 с.

ISBN 978–5–7508–1725–2

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (Т. С. Уланова, Н. В. Зайцева, Е. В. Стенно, Г. А. Вейхман, А. В. Недошитова).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 8 ноября 2019 г.

3. Введены впервые.

ББК 51.244

ISBN 978–5–7508–1725–2

© Роспотребнадзор, 2020

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
8 ноября 2019 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение массовой концентрации алюминия в биологических средах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

Методические указания МУК 4.1.3589—19

Свидетельство о метрологической аттестации № 88-16207-011-RA.RU.310657-2017 от 27.03.2017.

I. Общие положения и область применения

1.1. Настоящие методические указания (далее – МУК) устанавливают порядок применения метода масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой для измерения массовой концентрации алюминия в крови в диапазоне 20—700 мкг/дм^3 и в моче в диапазоне 0,1—1000 мкг/дм^3.

Диапазоны измерений алюминия в крови и моче, масса используемого при измерении изотопа приведены в табл. 1.

Таблица 1

Наименование определяемого элемента, масса измеряемого изотопа, диапазоны измерений алюминия в крови и моче

Определяемый элемент	Масса изотопа, используемого при измерении	Диапазон измерений в крови, мкг/дм^3	Диапазон измерений в моче, мкг/дм^3
Алюминий	27	от 20 до 700 включ.	от 0.1 до 1000 включ.

1.2. МУК предназначены для органов и организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия

человека, а также могут быть использованы организациями, осуществляющими исследования в области профпатологии и охраны здоровья населения.

1.3. МУК носят рекомендательный характер.

II. Физико-химические и токсикологические свойства

2.1. Алюминий (Al), CAS 7429-90-5, атомная масса 26,98, плотность 2,7 г/см^3. Токсическое действие алюминия выражено влиянием на нервную систему. Особенно часто негативный эффект наблюдается у людей с нарушенной выделительной функцией почек. Соединения алюминия относятся ко 2 классу опасности.

III. Требования к показателям точности измерений

3.1. При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализа в точном соответствии с данной методикой значения погрешности (и её составляющих) результатов измерений не превышают значений, приведенных в табл. 2.

Таблица 2

Диапазоны измерений, значения показателей точности, правильности, повторяемости, воспроизводимости

Диапазон измерений массовой концентрации алюминия, мкг/дм^3	Показатели прецизионности (относительные значения), %		Показатель правильности (границы относительной систематической погрешности при доверительной вероятности 0,95), $\pm \delta_c$, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при $P = 0,95$), $\pm \delta$, %
	стандартное отклонение повторяемости, σ_r	стандартное отклонение воспроизводимости, σ_R		
Кровь				
От 20 до 200 вкл.	9	15	10	31
Свыше 200 до 700 вкл.	5	11	7	23
Моча				
От 0,1 до 10 вкл.	14	13	15	30
Свыше 10 до 1000 вкл.	6	11	7	23

IV. Метод измерений

4.1. Измерения массовых концентраций алюминия выполняют методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (далее – ИСП-МС), основанном на использовании индуктивно связанной аргоновой плазмы в качестве источника ионов и масс-спектрометра для их раз-

деления и детектирования. Измерения проводят в режиме реакционной ячейки. В качестве газа-реактанта используют гелий.

Связь интенсивности сигнала детектора масс-спектрометра с массовой концентрацией определяемого элемента в растворе устанавливают с помощью градуировочной характеристики. Для учёта возможных матричных влияний, транспортных помех и дрейфа чувствительности масс-спектрометра измерения проводят с использованием внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта используют раствор германия концентрации 100 мкг/дм^3.

4.2. Характеристика показателей и комплектующих масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой, используемого при выполнении измерений, приведена в табл. 3.

V. Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, реактивам и материалам

5.1. При выполнении измерений и подготовке проб применяют средства измерений, стандартные образцы, вспомогательные устройства, реактивы и материалы, приведенные в табл. 3.

Таблица 3

Средства измерений, стандартные образцы, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

Наименование средств измерений, вспомогательных устройств, реактивов и материалов	Обозначение и наименование документов, в соответствии с которыми выпускают средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы
1	2
Средства измерений	
Масс-спектрометр с индуктивно связанной плазмой с октопольной ячейкой с характеристиками показателей и комплектующих масс-спектрометра: диапазон сканирования масс, а.е.м.: 2—260; пределы обнаружения: Be ≤ 1,5 нг/дм^3, In ≤ 0,5 нг/дм^3, Bi ≤ 0,5 нг/дм^3; чувствительность (имп./с на 1 мг/дм^3): Li(7) ≥ 30 · 10^6, Sr(88) ≥ 80 · 10^6, Tl(205) ≥ 40 · 10^6; кратковременная стабильность, СКО: ≤ 3 %; долговременная стабильность, СКО: ≤ 4 %; двузарядные ионы, (Ce^{2+}/Ce^{+}): ≤ 3 % оксидные ионы, (CeO/Ce): ≤ 1,5 % уровень фона на массе 9: < 5 имп./с;	–

Продолжение табл. 3

1	2
скорость работы детектора: ≥ 100 мкс на 1 ион относительное СКО случайной составляющей погрешности измерений аналитического сигнала: ≤ 3 %; микроаэрозольный концентрический кварцевый распылитель; перистальтический насос для подачи образца	
Кварцевая распылительная камера Скотта с электронным Пельтье-охлаждением (диапазон от –5 до 20 °С), диаметр инжектора: 2.5 мм	
Дозаторы жидкости механические с одноразовыми наконечниками вместимостью: 1—5 $см^3$ 100—1000 $мм^3$ 20—200 $мм^3$	ГОСТ 28311
Колбы: 2–50–2 2–100–2 2–200–2	ГОСТ 1770
Цилиндры: 3–50–2 3–100–2 3–500–2	ГОСТ 1770
Пипетки градуированные: 2-1-1-0,5 2-1-1-2 2-1-2-5 2-1-2-10	ГОСТ 29227
Государственный стандартный образец состава раствора ионов алюминия с массовой концентрацией 1.00 $г/дм^3$, с относительной погрешностью аттестованного значения при P = 0.95 не более 1.0 %	ГСО 7927
Метеоскоп для контроля условий измерений (п. 8) с техническими характеристиками: давление воздуха: 80—110 кПа; влажность воздуха: 3—97 %; температура воздуха: от –40 до +85 °С	–
Примечание. Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.	
Реактивы	
Кислота азотная, осч	ГОСТ 11125
Дистиллированная вода	ГОСТ 6709
Деионизованная вода	ГОСТ Р 52501
Аргон жидкий или газообразный, вч (99.998 %)	–

Продолжение табл. 3

1	2
Гелий газообразный, вч (99,995%)	–
Раствор с содержанием элемента сравнения германия 10 мг/дм^3	–
Раствор настройки чувствительности масс-спектрометра с содержанием лития, магния, иттрия, церия, таллия, кобальта 1 мкг/дм^3 или 10 мкг/дм^3	–
Водорода перекись, хч	ГОСТ 10929
Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.	
Вспомогательные устройства и материалы	
Система очистки воды, позволяющая получить дистиллированную и деионизованную воду	–
Шкаф вытяжной химический	–
Шкаф сушильный, обеспечивающий поддержание температуры от 50 до 200 °С	–
Ультразвуковая мойка, объем 9,5 дм^3	–
Центрифуга, диапазон частоты вращения 500—3 000 об./мин	–
Газификатор или баллон для аргона	ГОСТ 949
Баллон для гелия	ГОСТ 949
Холодильник бытовой для хранения проб, обеспечивающий поддержание температуры в холодильном отделении от 4 до 10 °С, в морозильном отделении – минус 18 °С	–
Пробирки вакуумные для забора крови с напылением гепарина	–
Пробирки из полипропилена градуированные с винтовыми крышками вместимостью 50 см^3	–
Пробирки из полипропилена конические градуированные с винтовыми крышками вместимостью 15 см^3	–
Контейнеры с винтовой крышкой для сбора биологического материала стандартные полипропиленовые	–
Мембранные фильтры с порами 0,45 мкм, диаметром 30 мм	–
Тефлоновые емкости	–
Полиэтиленовые емкости	–
Пластиковый контейнер	–
Примечание. Допускается использование других вспомогательных устройств и материалов аналогичного назначения, технические характеристики которых не уступают указанным.	

VI. Требования безопасности и охраны окружающей среды

6.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования противопожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004, помещение лаборатории должно иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

6.2. При работе необходимо соблюдать правила по технике безопасности и производственной санитарии при работе в химических лабораториях, правила устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением.

6.3. При работе с химическими реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007 и ГОСТ 12.1.005. Помещение должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией.

6.4. Работа с биологическими средами осуществляется в соответствии с санитарными правилами[1].

6.5. Измерения на приборе осуществляются в соответствии с инструкцией по правилам эксплуатации.

VII. Требования к квалификации операторов

7.1. К выполнению измерений и обработке результатов допускают химиков-аналитиков, имеющих соответствующую квалификацию, опыт работы на масс-спектрометре, освоивших метод анализа и получивших удовлетворительные результаты оперативного контроля процедуры измерений. Операции по подготовке проб к анализу может выполнять лаборант или техник, имеющий опыт работы в химической лаборатории. К обслуживанию масс-спектрометра допускаются лица квалификации не ниже инженера контрольно-измерительных приборов и аппаратуры, прошедшие инструктаж по технике безопасности на рабочем месте и изучившие правила обслуживания спектрометра.

VIII. Условия измерений

8.1. При приготовлении растворов и подготовке проб в лаборатории соблюдают следующие условия:

– температура воздуха (20 ± 5) °С;

– атмосферное давление от 84,0 до 106,7 кПа (630—800 мм рт. ст.);

– влажность воздуха от 30 % до 80 %.

8.2. Выполнение измерений на масс-спектрометре проводят в лабораторных помещениях, оборудованных в соответствии с требованиями руководства по эксплуатации прибора. Градиент температуры не должен превышать 2 °С/ч, согласно инструкции и руководству по настройке и эксплуатации масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой.

---

[1] СП 1.3.2322—08 «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

XI. Подготовка к выполнению измерений

9.1. Подготовка масс-спектрометра

9.1.1. Масс-спектрометр готовят к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора. Проводят настройку в режиме без газа-реактанта.

Производят проверку чувствительности, уровня фона, уровня вторичных оксидных и двузарядных ионов. Используют раствор настройки чувствительности масс-спектрометра 1 % азотной кислоты, содержащий 1 мкг/дм^3 Li, Mg, Y, Ce, Tl, Co. Затем производят переключение на режим работы с реакционной ячейкой. Для этого необходимо отредактировать значения, нужные для работы в режиме с гелием: напряжение на линзе, фокусирующей на квадруполь, смещающее напряжение на октополе, смещающее напряжение на квадруполе. Проводят настройку прибора в реакционном режиме, устанавливают скорость подачи гелия для получения оптимальной чувствительности. Файл с настроечными параметрами сохраняют в программе прибора, и при последующем измерении настройки могут потребоваться только для вытягивающих линз. Пример режима проведения измерений подготовленных проб крови и мочи приведен в табл. 4.

Таблица 4

Условия выполнения анализа на масс-спектрометре в реакционном режиме

Параметр	Значение
1	2
Мощность высокочастотного сигнала (Вт)	1400
Расстояние от горелки до отбирающего конуса (мм)	7,0
Смещение горелки по горизонтали (мм)	0,7
Смещение горелки по вертикали (мм)	–1,2
Скорость потока газа-носителя (л/мин)	1,01
Скорость потока поддувочного газа (л/мин)	0,14
Скорость работы перистальтического насоса (об./с), обслуживающего распылитель	0,1
Температура распылительной камеры (°С)	2
Вытягивающая линза 1 (В)	3,8
Вытягивающая линза 2 (В)	–89,0
Смещающая омега-линза для 7500cx (В)	–16
Омега-линза (отделяет ионы) для 7500cx (В)	2,0
Линза на входе реакционной ячейки (В)	–32
Линза, фокусирующая на квадруполь (В)	–8
Линза на выходе реакционной ячейки	–48

Продолжение табл. 4

1	2
Высокочастотное напряжение на октополе (В)	152
Смещающее напряжение на октополе (В)	–18
Смещающее напряжение на квадруполе (В)	–16
Период интегрирования при концентрации до 50 мкг/л (с)	0.50
Скорость подачи гелия (мл/мин)	4,3
Скорость подачи образца (мл/мин)	0,4

Перед проведением анализа необходимо, чтобы газ-реактант заполнил все подающие пути и реакционную ячейку, установить скорость потока гелия 10 мл/мин и оставить прибор на 30 минут для стабилизации, после чего можно проводить измерение аналитического сигнала.

9.2. Подготовка посуды

9.2.1. Пластиковую посуду (в том числе новую) отмывают в теплой проточной воде. Далее промывают в ультразвуковой мойке при температуре 45—50 °С, помещая посуду в пластиковый контейнер: 3—4 раза в дистиллированной воде по 10 минут со сменой воды, затем 30 минут в азотной кислоте, разбавленной дистиллированной водой 1 : 5, затем промывают в дистиллированной воде 3—4 раза по 10 минут со сменой воды. Ополаскивают деионизованной водой. Пробирки для стандартных образцов хранят в герметично закрытом пластиковом контейнере, пробирки для приготовления проб и пробирки для готовых растворов проб (виалы встроенного автоматического пробоотборника) хранят до использования в тефлоновых или полиэтиленовых емкостях в деионизованной воде.

Посуду для отбора и хранения биологических сред многократного использования перед мытьем дезинфицируют с применением дезинфицирующих средств, например, замачивают в 4 % перекиси водорода на 90 минут, отмывают в проточной воде с применением ерша или ватно-марлевого тампона в соответствии с методическими указаниями[2].

Пипетки многократного использования промывают горячей проточной водой, замачивают на 24 часа в азотной кислоте, разбавленной дистиллированной водой 1 : 5, промывают 4—5 раз в дистиллированной воде, меняя воду, ополаскивают деионизованной водой. Хранят в герметично закрытом пластиковом контейнере.

[2] МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

9.3. Приготовление основных растворов

9.3.1. *Раствор № 1 с массовой концентрацией ионов алюминия 10 мг/дм^3.*

Готовят из раствора основного стандартного образца с массовой концентрацией ионов алюминия 1,0 г/дм^3.

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят автоматическим дозатором или градуированной пипеткой 0,5 см^3 раствора стандартного образца с массовой концентрацией ионов алюминия 1 г/дм^3 и доводят объем в колбе до метки 1 %-м раствором азотной кислоты. Хранят 3—5 дней в полипропиленовых пробирках при комнатной температуре.

9.3.2. *Раствор № 2 с массовой концентрацией ионов алюминия 100 мкг/дм^3.*

Готовят из раствора № 1 с массовой концентрацией ионов алюминия 10 мг/дм^3.

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят автоматическим дозатором или пипеткой 0,5 см^3 раствора стандартного образца с массовой концентрацией ионов алюминия 10 мг/дм^3 и доводят объем в колбе до метки 1 %-м раствором азотной кислоты. Хранят 3—5 дней в полипропиленовых пробирках при комнатной температуре.

9.3.3. *Раствор № 3 с массовой концентрацией ионов алюминия 50 мкг/дм^3.*

Готовят из раствора № 1 с массовой концентрацией ионов алюминия 10 мг/дм^3.

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят дозатором или пипеткой 0,5 м^3 раствора № 1 с массовой концентрацией ионов алюминия 10 мг/дм^3 и доводят объем в колбе до метки 1 %-м раствором азотной кислоты. Хранят 3—5 дней в полипропиленовых пробирках при комнатной температуре.

9.3.4. *Раствор № 4 с массовой концентрацией ионов алюминия 10 мкг/дм^3.*

Готовят из раствора № 2 с массовой концентрацией ионов алюминия 100 мкг/дм^3.

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят дозатором или пипеткой 5 см^3 раствора № 2 и доводят объем в колбе до метки 1 %-м раствором азотной кислоты. Хранят 3—5 дней в полипропиленовых пробирках при комнатной температуре.

9.3.5. *Раствор внутреннего стандарта с массовой концентрацией элементов сравнения германия 100 мкг/дм^3.*

Готовят из основного раствора с массовой концентрацией элемента сравнения германия 10 мг/дм^3.

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят дозатором или пипеткой 0,5 см^3 основного раствора с массовой концентрацией элемента

сравнения 10 мг/дм^3 и доводят объем в колбе до метки 1%-м раствором азотной кислоты. Раствор хранят в полипропиленовой пробирке 2—3 дня при комнатной температуре.

9.3.6. *Раствор внутреннего стандарта с массовой концентрацией элемента сравнения германия концентрации 1 мкг/дм^3.*

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят дозатором или пипеткой 0,5 см^3 раствора внутреннего стандарта с массовой концентрацией элемента сравнения 100 мкг/дм^3 и доводят объем 1 %-м раствором азотной кислоты до метки. Переливают в полипропиленовую пробирку. Используют свежеприготовленным.

9.3.7. *Раствор азотной кислоты 1 %-й.*

В полиэтиленовый флакон вместимостью не менее 500 см^3 вносят 495 см^3 деионизованной воды, отмеренной цилиндром, затем добавляют отмеренные дозатором или пипеткой 4,7 см^3 концентрированной азотной кислоты плотностью 1,415 г/см^3, закрывают крышкой и перемешивают. Хранят в полиэтиленовой посуде при комнатной температуре.

9.3.8. *Растворы холостых проб.*

9.3.8.1. Холостую пробу для определения алюминия в крови готовят следующим образом: в коническую градуированную пробирку из полипропилена вместимостью 15 см^3 дозатором вносят аликвоту деионизованной воды объемом 0,1—0,2 см^3, добавляют 0,2—0,4 см^3 концентрированной азотной кислоты, плотностью 1,415 г/см^3, закрывают крышкой, пробирку с содержимым взбалтывают, выдерживают 6—7 часов, затем доводят объем раствора до 10 см^3 деионизованной водой, центрифугируют 10 мин со скоростью (2 700—3 000) об./мин.

Растворы холостой пробы готовят одновременно с подготовкой проб крови в количестве, достаточном для приготовления серии градуировочных растворов, но не менее 40 см^3. Несколько подготовленных холостых проб объединяют, сливая в пробирки из полипропилена вместимостью 50 см^3.

При анализе крови холостую пробу используют только для приготовления градуировочных растворов.

9.3.8.2. Холостую пробу для определения алюминия в моче готовят следующим образом: в пробирку автоматического пробоотборника с помощью дозатора вносят 0,5 см^3 деионизованной воды, добавляют 4,45 см^3 1 % азотной кислоты, дозатором добавляют 0,05 см^3 комплексного раствора внутреннего стандарта с массовой концентрацией элемента сравнения 100 мкг/дм^3 (п. 9.3.5).

При анализе проб мочи холостую пробу анализируют на масс-спектрометре и при обработке результатов анализа вычитают из результата измерений (формула 3).

9.3.9. *Раствор с массовыми концентрациями Li, Mg, Y, Ce, Tl, Co 1 мкг/дм^3.*

Настроечный раствор с массовыми концентрациями Li, Mg, Y, Ce Tl, Co 1 мкг/дм^3 применяют без дополнительных процедур подготовки. При использовании настроечного раствора для ИСП-МС с более высоким содержанием элементов (например, 10 мкг/дм^3) проводят соответствующее разбавление его 1 %-м раствором азотной кислоты. Для этого в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят дозатором или пипеткой 10 см^3 настроечного раствора с массовой концентрацией 10 мкг/дм^3 и доводят раствор до метки 1%-м раствором азотной кислоты. Раствор хранят в полиэтиленовой посуде в течение 6 месяцев при комнатной температуре.

9.3.10. *Раствор перекиси водорода 4 %-й.*

Отмеренные цилиндром 70 см^3 концентрированной перекиси водорода плотностью 1,1 г/см^3 смешивают с 430 см^3 дистиллированной воды, отмеренной цилиндром. Раствор используют свежеприготовленным.

9.4. Приготовление градуировочных растворов

9.4.1. Растворы № 2, № 3, № 4, раствор с массовой концентрацией элемента сравнения германия 100 мкг/дм^3 в качестве внутреннего стандарта, раствор 1 % азотной кислоты (HNO_3) и раствор холостой пробы в объемах, приведенных в таблице 5, дозатором вносят в пробирки для автоматического пробоотборника вместимостью 6 см^3.

Градуировочные растворы применяют свежеприготовленными.

Таблица 5

Приготовление растворов для установления градуировочной характеристики (объем полученного раствора 5 см^3)

Номер раствора	1	2	3	4	5	6	7
Массовая концентрация элемента в градуировочных растворах, мкг/дм^3	0	0,1	0,5	1,0	5,0	10,0	25,0
Объем раствора № 4 10 мкг/дм^3, см^3	–	0,05	–	0,5	–	–	–
Объем раствора № 3 50 мкг/дм^3, см^3	–	–	0,05	–	0,5	–	–
Объем раствора № 2 100 мкг/дм^3, см^3	–	–	–	–	–	0,5	1,25
Объем раствора внутреннего стандарта германия 100 мкг/дм^3, см^3	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Объем раствора 1 % HNO_3 (при анализе мочи), см^3	4,95	4,90	4,90	4,45	4,45	4,45	3,7
Объем раствора ХП (при анализе крови), см^3	4,95	4,90	4,90	4,45	4,45	4,45	3,7

X. Выполнение измерений

10.1. Отбор проб

10.1.1. Отбор проб крови производят в зависимости от поставленной задачи из пальца, вены, пупочной вены в химически чистые, обеззараженные полипропиленовые пробирки с крышками вместимостью 15 $см^3$ или в вакуумные пробирки с внесенным антикоагулянтом. Возможно хранение проб в холодильнике (от 0 °С до 4 °С) до 3 суток или длительное хранение при замораживании.

10.1.2. Отбор проб мочи (утренняя или суточная) производят в стандартные полипропиленовые контейнеры вместимостью 125 $см^3$ с винтовой крышкой. Возможно хранение проб в холодильнике (от 0 °С до 4 °С) до 3 суток или длительное хранение при замораживании.

10.2. Подготовка проб

10.2.1. Перед выполнением измерений подготовку проб крови проводят способом кислотного растворения. Пробы мочи готовят способом разбавления 1 %-м раствором азотной кислоты.

Подготовку проб проводят в вытяжном шкафу. Готовят холостую пробу и контрольную (проверочную) пробу.

В качестве контрольной пробы используют пробы крови и мочи с известной концентрацией алюминия.

В процессе приготовления холостых проб полностью повторяют процедуру подготовки рабочих проб. Холостые пробы содержат все компоненты, кроме исследуемой пробы крови или мочи, объем реальной пробы заменяют таким же объемом деионизованной воды. Используют посуду из той же партии, которая используется для анализа, и добавляют те же реактивы, что и в анализируемых пробах.

Для улучшения прецизионности, учета погрешностей пробоподготовки, разбавления, транспортных помех в масс-спектрометре при подготовке к пробам (холостой для мочи, анализируемой, контрольной и градуировочным растворам) добавляют элемент сравнения (внутренний стандарт). В качестве внутреннего стандарта рекомендуется использовать раствор с содержанием элемента сравнения германия массовой концентрации 100 $мг/дм^3$.

Массовая концентрация внутреннего стандарта должна быть одинаковой в градуировочных растворах, анализируемых и холостых пробах.

10.2.2. Кислотное растворение крови.

Пробу крови объемом 0,1—0,2 $см^3$ дозатором вносят в конические градуированные пробирки из полипропилена вместимостью 15 $см^3$, дозатором добавляют 0,1 $см^3$ комплексного раствора внутреннего стандарта с массовой концентрацией элемента сравнения 100 $мкг/дм^3$ (п. 9.3.5),

добавляют 0,2—0,4 $см^3$ концентрированной азотной кислоты, плотностью 1,415 $г/см^3$, закрывают крышкой, пробирку с содержимым взбалтывают, выдерживают 6—7 часов, затем доводят до 10 $см^3$ деионизованной водой, центрифугируют 10 минут со скоростью 2 700—3 000 об./мин. Дозатором вносят 5 $см^3$ готового для анализа раствора в пробирку автоматического пробоотборника.

Подготовленные растворы используют для проведения измерений массовых концентраций алюминия. Хранению не подлежат.

10.2.3. Разбавление проб мочи.

В пробирки автоматического пробоотборника с помощью дозатора вносят 0,5 $см^3$ мочи, добавляют 4,45 $см^3$ 1 % азотной кислоты (п. 9.3.7), дозатором добавляют 0,05 $см^3$ комплексного раствора внутреннего стандарта с массовой концентрацией элемента сравнения 100 $мкг/дм^3$ (п. 9.3.5). Пробы накрывают герметизирующей лабораторной пленкой, перемешивают. Подготовленные растворы используют для измерений массовых концентраций алюминия. Хранению не подлежат.

Пробы мочи с осадком, оставшимся после разбавления, центрифугируют или фильтруют через мембранные фильтры с порами 0,45 микрона.

10.3. Порядок выполнения измерений

10.3.1. *Построение градуировочной характеристики.*

Градуировочную характеристику устанавливают ежедневно на приготовленных градуировочных растворах. Для градуировки используют метод градуировки с внутренним стандартом. Градуировочная характеристика представляет собой зависимость интенсивности сигнала детектора (отношение интенсивностей сигналов детектора для определяемого элемента и внутреннего стандарта) от концентрации определяемого элемента (отношения концентрации определяемого элемента и внутреннего стандарта). Рабочую серию, состоящую из 5—6 растворов, готовят непосредственно перед использованием путем разведения рабочих растворов ионов алюминия и раствора, содержащего элемент сравнения германий (внутренний стандарт) (табл. 5).

Определение градуировочной зависимости, обработка и хранение результатов градуировки выполняются программным обеспечением масс-спектрометра.

10.3.2. *Контроль стабильности градуировочной характеристики.*

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят перед началом анализа проб. Проверка заключается в измерении содержания алюминия в 1—2 градуировочных растворах, массовая концентрация которых соответствует массовой концентрации алюминия в анализируемых пробах.

Градуировка признается стабильной, если выполняется следующее условие:

$$|C_i - C| \le K_{,p}, \text{ где} \quad (1)$$

C – аттестованное (расчетное) значение массовой концентрации определяемого элемента в растворе для градуировки, мкг/дм^3;

C_i – измеренное значение массовой концентрации определяемого элемента в растворе для градуировки, мкг/дм^3;

$K_{,p}$ – норматив контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/дм^3, рассчитанный по формуле:

$$K_{,p} = 0{,}15 \cdot C \quad (2)$$

При невыполнении условия стабильности градуировочной характеристики (1) эксперимент повторяют с другим градуировочным раствором. При повторном невыполнении условия стабильности градуировочной характеристики требуется установление и устранение причин, приводящих к нестабильности градуировочной характеристики.

10.3.3. Для выявления и учета возможных изменений чувствительности прибора повторные измерения растворов стандартного (градуировочного) образца, соответствующего содержанию алюминия в анализируемых растворах, и контрольных (проверочных) проб (п. 9.4, п. 10.2.1), проводят через 10—15 образцов. Измерения проводят с учетом внесенного внутреннего стандарта, используя программное обеспечение масс-спектрометра.

10.3.4. Измеряют раствор внутреннего стандарта с массовой концентрацией элемента сравнения германия 1 мкг/дм^3 (п. 9.3.6) для определения предела обнаружения.

10.3.5. Проводят измерения проб крови или мочи. Для проб мочи дополнительно проводят измерения холостой пробы. Измерения проводят с учетом внесенного внутреннего стандарта, используя программное обеспечение масс-спектрометра.

10.3.6. При измерении растворов проб с массовой концентрацией алюминия в анализируемом растворе выше 25 мкг/дм^3 рекомендуется провести дополнительное разбавление пробы, учитывая данное разбавление при вычислении результатов (коэффициент К). Измерения дополнительно разбавленной пробы проводят без учета внесенного внутреннего стандарта, используя программное обеспечение масс-спектрометра.

XI. Обработка (вычисление) результатов измерений

11.1. Массовую концентрацию алюминия в моче рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{(\bar{a} - \bar{x}_n) \cdot K \cdot V_1}{V_0}. \quad (3)$$

Массовую концентрацию алюминия в крови рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{\overline{a} \cdot K \cdot V_1}{V_0}, \text{ где} \quad (4)$$

C – массовая концентрация алюминия в моче или крови, мкг/дм^3;

$\overline{a}$ – среднее значение массовой концентрации алюминия в растворе пробы, мкг/дм^3;

$\overline{x_n}$ – среднее значение массовой концентрации алюминия в холостой пробе, мкг/дм^3;

K – коэффициент разбавления;

V_1 – объем минерализованной пробы, дм^3;

V_0 – объем пробы мочи или крови, взятой для анализа, дм^3.

11.2. За результат измерения $\overline{C}$ принимают среднее арифметическое значение двух параллельных определений C_1, C_2, для которых выполняется условие:

$$|C_1 - C_2| \le 0{,}01 \cdot r \cdot \frac{C_1 + C_2}{2}, \text{ где} \quad (5)$$

r – предел повторяемости (относительное значение), %.

Значения предела повторяемости приведены в таблице 6.

При невыполнении условия (5) процедуру повторяют. При повторном превышении предела повторяемости устанавливают причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

Таблица 6

Диапазоны измерений, значения пределов повторяемости, пределов воспроизводимости при доверительной вероятности $P = 0{,}95$

Диапазон измерений массовой концентрации алюминия, мкг/дм^3	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в условиях повторяемости), r, %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, %
Кровь		
От 20 до 200 вкл.	25	42
Свыше 200 до 700 вкл.	14	31
Моча		
От 0.1 до 10 вкл.	39	36
Свыше 10 до 1000 вкл.	17	31

XII. Оформление результатов измерений

12.1. Результат измерений представляют в виде:

$$(\overline{C} \pm \Delta),\ \text{мкг/дм}^3,\ \text{где} \qquad (6)$$

$\overline{C}$ – результат измерений массовой концентрации алюминия в пробах крови или мочи, мкг/дм^3;

Δ – характеристика погрешности, мкг/дм^3 при $P = 0{,}95$, рассчитанная по формуле:

$$\Delta_{,} = \frac{\delta \cdot \overline{C}}{100},\ \text{где} \qquad (7)$$

δ – относительное значение характеристики погрешности, %.

Значение δ приведено в табл. 2.

XIII. Контроль точности результатов измерений

13.1. Обеспечение достоверности измерений в пределах лаборатории организуют и проводят путем проведения проверки приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях повторяемости (п. 11.2), воспроизводимости, оперативного контроля процедуры измерений и контроля стабильности результатов измерений в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-6.

13.2. Проверка приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях воспроизводимости.

Проверку приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях воспроизводимости (результаты измерений получены в разных лабораториях), проводят по результатам измерений массовой концентрации определяемого элемента в образцах крови или мочи с одинаковым содержанием алюминия.

Результаты измерений признают приемлемыми при выполнении условия:

$$\frac{\left|\overline{C}_1 - \overline{C}_2\right|}{(\overline{C}_1 + \overline{C}_2)/2} \cdot 100\% \le R,\ \text{где} \qquad (8)$$

$\overline{C_1}$ и $\overline{C_2}$ – результаты измерений массовой концентрации алюминия, полученные в разных лабораториях, мкг/дм^3;

R – предел воспроизводимости, %.

Значения предела воспроизводимости приведены в таблице 6.

При выполнении условия (8) приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного может быть использовано их общее среднее арифметическое значение.

При превышении предела воспроизводимости могут быть использованы методы оценки приемлемости результатов измерений, согласно ГОСТ Р ИСО 5725-6.

13.3. Алгоритм оперативного контроля процедуры измерений с использованием метода добавок.

Образцами для контроля процедуры измерений являются образцы крови или мочи с внесенными в них добавками аттестованного раствора алюминия, подготовленного в соответствии с п. 9.3.2.

Оперативный контроль процедуры измерений проводят путем сравнения результата отдельно взятой контрольной процедуры $К_к$ с нормативом контроля К.

Результат контрольной процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \left|\overline{C}' - \overline{C} - C_д\right|, \text{ где} \qquad (9)$$

$\overline{C}'$ – результат измерений массовой концентрации алюминия в пробе с известной добавкой – среднее арифметическое двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, расхождение между которыми удовлетворяет условию (5), мкг/дм^3;

$\overline{C}$ – результат измерений массовой концентрации алюминия в исходной пробе – среднее арифметическое двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, расхождение между которыми удовлетворяет условию (5), мкг/дм^3;

$C_д$ – величина введенной добавки, мкг/дм^3.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л\overline{C}'_{ср}} + \Delta^2_{л\overline{C}_{ср}}}, \text{ где} \qquad (10)$$

$\Delta_{л\overline{C}'_{ср}}$, $\Delta_{л\overline{C}_{ср}}$ – значения характеристики погрешности результатов измерений, установленные в лаборатории при реализации методики, соответствующие массовой концентрации элемента в пробе с известной добавкой и в исходной пробе соответственно.

Примечание. Допустимо характеристику погрешности результатов измерений при внедрении методики в лаборатории устанавливать на основе выражений:

$$\Delta_{л\overline{C}'} = 0{,}84 \cdot 0{,}01 \cdot \delta \cdot \overline{C}', \qquad (11)$$

$$\Delta_{л\overline{C}} = 0{,}84 \cdot 0{,}01 \cdot \delta \cdot \overline{C}, \qquad (12)$$

с последующим уточнением по мере накопления информации в процессе контроля стабильности результатов измерений.

Процедуру измерений признают удовлетворительной при выполнении условия:

$$K_к \le K. \qquad (13)$$

При невыполнении условия (13) контрольную процедуру повторяют.

При повторном невыполнении условия (13) требуется установление причин, приводящих к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.4. Алгоритм оперативного контроля процедуры измерений с использованием образцов для контроля.

Образцами для контроля процедуры измерений являются аттестованные смеси с соответствующей матрицей (кровь, моча).

Измерения массовой концентрации элементов в образцах для контроля проводят в соответствии с прописью методики измерений.

Оперативный контроль процедуры измерений проводят путем сравнения результата отдельно взятой контрольной процедуры $K_к$ с нормативом контроля точности K.

Результат контрольной процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = |\overline{C_i} - C_{ат}|, \text{ где} \qquad (14)$$

$\overline{C_i}$ – результат контрольного измерения массовой концентрации алюминия в образце для контроля – среднее арифметическое результатов параллельных определений, для которых выполняется условие (4) , мкг/дм^3;

$C_{ат}$ – аттестованное значение массовой концентрации алюминия в образце для контроля, мкг/дм^3.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \Delta_л, \text{ где} \qquad (15)$$

$\Delta_л$ – характеристика абсолютной погрешности измерений массовой концентрации алюминия (мкг/дм^3), установленная в лаборатории при реализации методики.

Примечание. Допустимо характеристику погрешности результатов измерений при внедрении методики в лаборатории устанавливать на основе выражения:

$$\Delta_л = 0{,}84 \cdot \Delta,$$

с последующим уточнением по мере накопления информации в процессе контроля стабильности результатов измерений.

Качество контрольной процедуры признают удовлетворительным при выполнении условия:

$$K_к \leq K. \quad (16)$$

При невыполнении условия (16) эксперимент повторяют.

При повторном невыполнении условия (16) требуется установление причин, приводящих к неудовлетворительным результатам.

Нормативные и методические документы

1. СП 1.3.2322—08 «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

2. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

3.ГОСТ 12.1.004 «Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования».

4. ГОСТ 12.1.005 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны.

5. ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.

6. ГОСТ 12.4.009 «Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание».

7.ГОСТ 949 «Баллоны стальные малого и среднего объема для газов на P(p)<=19,6 МПа (200 кгс/см^2). Технические условия».

8. ГОСТ 1770 «Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Технические условия».

9. ГОСТ 28311 «Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний».

10. ГОСТ 6709 «Вода дистиллированная. Технические условия».

11. ГОСТ 11125 «Кислота азотная особой чистоты. Технические условия».

12. ГОСТ 29227 «Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования».

13. ГОСТ Р 12.1.019 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

14. ГОСТ Р ИСО 5725-6 «Точность (правильность и прецизионность методов и результатов измерений). Использование значений точности на практике».

15. ГОСТ Р 52501 «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

16. ГОСТ 10929 «Реактивы. Водорода пероксид. Технические условия».

Измерение массовой концентрации алюминия в биологических средах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

Методические указания
МУК 4.1.3589—19

Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 29.01.2020

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,5

Тираж 100 экз. Заказ 7

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
Федеральным центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19А
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru