Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

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

gost.e-ecolog.ru

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение химических соединений в биологических средах

Сборник методических указаний

МУК 4.1.763—4.1.779—99

ББК 51.20+51.244
О60

О60 **Определение** химических соединений в биологических средах: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2000.—152 с.

ISBN 5—7508—0194—2

1. Разработаны под редакцией академика РАЕН, д. м. н., проф. Зайцевой Н. В., к. б. н. Улановой Т. С., к. б. н. Нурисламовой Т. В., Карнажицкой Т. Д., Суетиной Г. Н., Поповой Н. В., Митрофановой В. М., Плаховой Л. В., Рудаковой Е. А. (ПНИКИ детской экопатологии).

2. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 6 июля 1999 г.

ББК 51.20+51.244

Ответственный редактор Акопова Н. Е.
Верстка Юшкова Т. Г.
Технический редактор Смирнов В. В.

Подписано в печать 10.03.00

Формат 60x88/16 Печ. л. 9,5

Тираж 3000 экз. Зак. 6705

ЛР № 021232 от 23.06.97 г.

Министерство здравоохранения Российской Федерации
101431, Москва, Рахмановский пер., д. 3

Оригинал-макет подготовлен к печати Издательским отделом
Федерального центра госсанэпиднадзора Минздрава РФ
125167, Москва, проезд Аэропорта, 11.
Отделение реализации, тел. 198-61-01

Отпечатано с готового оригинал-макета в филиале Государственного ордена
Октябрьской революции, ордена Трудового Красного Знамени
Московского предприятия "Первая Образцовая типография"
Министерства Российской Федерации по делам печати,
телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.
113114, Москва, Шлюзовая наб., 10
Тел.: 235-20-30

© Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2000

Содержание

Область применения 4

Газохроматографический метод количественного определения ацетона в биосредах (моча): МУК 4.1.763—99 4

Газохроматографический метод количественного определения предельных (гексан, гептан) и ароматических (бензол, толуол, этилбензол, о-,м-,п-ксилол) углеводородов в биосредах (моча): МУК 4.1.764—99 4

Газохроматографический метод количественного определения ароматических (бензол, толуол, этилбензол, о-,м-,п-ксилол) углеводородов в биосредах (кровь): МУК 4.1.765—99 4

Газохроматографический метод количественного определения ароматических аминосоединений (анилин, N-метиланилин, о-толуидин, N,N-диметиланилин, N-этиланилин, N,N-диэтиланилин) в биосредах (моча): МУК 4.1.766—99 4

Газохроматографический метод количественного определения ароматических аминосоединений (анилин, N-метиланилин, о-толуидин, N,N-диметиланилин, N-этиланилин, N,N-диэтиланилин) в биосредах (кровь): МУК 4.1.767—99 4

Методика количественного определения экзогенного фенола в биосредах (моча): МУК 4.1.768—99 4

Количественное определение формальдегида в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.769—99 4

Количественное определение формальдегида в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.770—99 4

Газохроматографическое определение концентраций метилового, этилового, изопропилового, пропилового, изобутилового и бутилового спиртов в моче: МУК 4.1.771—99 4

Газохроматографическое определение концентраций метилового, этилового, изопропилового, пропилового, изобутилового и бутилового спиртов в крови: МУК 4.1.772—99 4

Количественное определение ионов фтора в моче с использованием ионселективного электрода: МУК 4.1.773—99 4

Определение содержания железа, цинка, никеля в моче методом атомной абсорбции: МУК 4.1.774—99 106

Определение содержания железа, цинка, никеля в желчи методом атомной абсорбции: МУК 4.1.775—99 113

Определение содержания железа, цинка, никеля, меди и хрома в волосах методом атомной абсорбции: МУК 4.1.776—99 120

Определение содержания цинка, никеля, меди и хрома в крови методом атомной абсорбции: МУК 4.1.777—99 128

Определение содержания цинка, никеля, меди и хрома в женском молоке методом атомной абсорбции: МУК 4.1.778—99 136

Определение содержания марганца, свинца в моче методом атомной абсорбции: МУК 4.1.779—99 144

Приложение А 151

Приложение Б 152

Приложение В 152

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
6 июля 1999 г.
МУК 4.1.766—99
Дата введения: 6 сентября 1999 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Газохроматографический метод количественного определения ароматических аминосоединений (анилин, N-метиланилин, о-толуидин, N,N-диметиланилин, N-этиланилин, N,N-диэтиланилин) в биосредах (моча)

Методические указания разработаны в соответствии с требованиями ГОСТа 8.563—96 «Методики выполнения измерений» и ГОСТа Р1.5—92 «Общие требования к построению, изложению, оформлению и содержанию стандартов». Методика анализа метрологически аттестована и обеспечивает определение ароматических аминосоединений в моче в диапазоне концентраций:

анилин	0,045—2,0 мкг/см^3
N-метиланилин	0,060—3,2 мкг/см^3
о-толуидин	0,040—4,2 мкг/см^3
N,N-диметиланилин	0,050—5,2 мкг/см^3
N-этиланилин	0,045—3,0 мкг/см^3
N,N-диэтиланилин	0,150—5,2 мкг/см^3

Особенностью токсического действия ароматических аминосоединений являются функциональные нарушения центральной нервной системы, печени. Ароматические аминосоединения вызывают дерматиты, экземы и развитие аллергии.

Издание официальное

АНИЛИН Мол. масса – 93,12
$C_6H_5NH_2$

Анилин – маслянистая прозрачная светло-желтая жидкость со специфическим запахом. $T_{кип}$ – 184,4 °С, $T_{плавл}$ – минус 5,89 °С. Анилин растворим в органических растворителях и труднорастворим в воде. Анилин относится ко 2 классу опасности.

N-МЕТИЛАНИЛИН Мол. масса – 107,50
$C_6H_5NHCH_3$

N-метиланилин – маслянистая прозрачная жидкость желтого цвета со специфическим запахом. $T_{кип}$ – 195,7 °С, $T_{плавл}$ – минус 57,0 °С. N-метиланилин растворим в органических растворителях и труднорастворим в воде. N-метиланилин относится к 3 классу опасности.

О-ТОЛУИДИН Мол. масса – 107,15
$C_6H_4NH_2CH_3$

О-толуидин – маслообразная прозрачная жидкость от светло-желтого до красновато-коричневого. $T_{кип}$ – 199,7 °С, $T_{плавл}$ – минус 24,4 °С. О-толуидин растворим в органических растворителях и труднорастворим в воде. О-толуидин относится ко 2 классу опасности.

N,N-ДИМЕТИЛАНИЛИН Мол. масса – 121,18
$C_6H_5N(CH_3)_2$

N,N-диметиланилин – маслянистая прозрачная жидкость желтого цвета со специфическим запахом. $T_{кип}$ – 194,0 °С, $T_{плавл}$ – 2,45 °С. N,N-диметиланилин растворим в органических растворителях и малорастворим в воде. N,N-диметиланилин относится ко 2 классу опасности.

N-ЭТИЛАНИЛИН Мол. масса – 121,1
$C_6H_5NC_2H_5$

N-этиланилин – маслянистая прозрачная жидкость с желтым оттенком со специфическим запахом. $T_{кип}$ – 204,7 °С. N-этиланилин растворим в органических растворителях и труднорастворим в воде. N-этиланилин относится к 4 классу опасности.

N,N-ДИЭТИЛАНИЛИН Мол. масса – 149,23
$C_6H_5N(C_2H_5)_2$

N,N-диэтиланилин – маслянистая прозрачная жидкость желтоватого цвета со специфическим запахом. $T_{кип}$ – 216,27 °С. $T_{плавл}$ – минус 38,8 °С. N,N-диэтиланилин растворим в органических растворителях и малорастворим в воде. N,N-диэтиланилин относится к 4 классу опасности.

ДИФЕНИЛ Мол. масса – 154,21
$C_6H_5\ C_6H_5$

Дифенил – бесцветные кристаллы. $T_{кип}$ – 255,9 °С, $T_{плавл}$ – 71,0 °С. Дифенил не растворим в воде, растворим в органических растворителях.

ХЛОРОФОРМ Мол. масса – 119,38
$CHCl_3$

Хлороформ – бесцветная жидкость с характерным сладковатым запахом. $T_{кип}$ – 61,15 °С, $T_{плавл}$ – минус 63,5 °С. Хлороформ растворим в этаноле, эфире, бензоле, ацетоне и сероуглероде, малорастворим в воде. Хлороформ относится ко 2 классу опасности.

Методика обеспечивает выполнение измерений с суммарной погрешностью результата измерений :

анилин	12,4 %,
N-метиланилин	11,8 %,
о-толуидин	15,0 %,
N,N-диметиланилин	10,0 %,
N-этиланилин	21,42 %,
N,N-диэтиланилин	15,4 %

при доверительной вероятности 0,95.

Сущность метода

Методика основана на предварительном концентрировании анализируемых соединений из биологического материала экстрак-

цией хлороформом и последующего газохроматографического анализа хлороформенного экстракта.

Измерение концентрации ароматических аминосоединений выполняют методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием.

Нижний предел измерения в объеме пробы:

анилин	0,045 мкг,
N-метиланилин	0,060 мкг,
о-толуидин	0,040 мкг,
N,N-диметиланилин	0,050 мкг,
N-этиланилин	0,045 мкг,
N,N-диэтиланилин	0,050 мкг.

Определению не мешают ацетон, ароматические углеводороды и алифатические спирты. Длительность анализа, включая экстракцию пробы, – 40 мин.

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

Хроматограф газовый с пламенно-ионизационным детектором	
Весы лабораторные ВЛР-200 аналитические	ГОСТ 24104—80Е
Секундомер «Агат»	ГОСТ 5072—79Е
Микрошприцы МШ-10	ТУ 5Е2.833.106
Посуда лабораторная стеклянная	ГОСТ 1770—84
Колбы мерные, вместимостью 100, 1000 см^3	ГОСТ 1770—74Е
Пипетки, вместимостью 1, 5, 10 см^3	ГОСТ 20292—74
Воронка делительная	ГОСТ 23932—79

Вспомогательные устройства

Хроматографическая колонка стальная длиной 3 м и внутренним диаметром 3 мм	
Бидистиллятор	ГОСТ 15150—69
Редуктор кислородный	ТУ 26—05—235—70

Ротационный испаритель типа ИР-1,
ИР-1М или аналогичный
Центрифуга СМ-4, 3000 об/мин

Материалы

Гелий в баллоне	ТУ 51—940—80
Водород технический	ГОСТ 3022—80
Воздух в баллоне	ГОСТ 11882—73

Реактивы

3% OV-1 на хроматоне N-супер фракции 0,16—0,20 мм – неподвижная фаза для заполнения хроматографической колонки	
Анилин ч. д. а.	ГОСТ 5810—78
N-метиланилин технический	ТУ 6—02—571—81
N,N-диметиланилин ч. д. а.	ГОСТ 5855—78
О-толуидин ч. д. а.	ГОСТ 10205—73
N-этиланилин технический	ТУ 6214—12—37—77
N,N-диэтиланилин ч. д. а.	ГОСТ 10162—75
Дифенил ч. д. а.	
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—72
Хлорид натрия х. ч.	ГОСТ 4233
Хлороформ фарм.	ГОСТ 20015—88

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

При выполнении измерений с использованием газового хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТом 12.1.019—79 и инструкции по эксплуатации прибора.

Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже инженера-химика и опыт работы на газовом хроматографе.

Условия измерений

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

- температура воздуха (20 ± 5) °С;
- атмосферное давление 630—800 мм рт. ст.;
- влажность воздуха – не более 80 % при температуре 25 °С.

Выполнение измерений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендуемых технической документацией по прибору.

Подготовка к выполнению измерений

Перед выполнением измерений проводят следующие работы: подготовка хроматографической колонки, приготовление стандартных смесей, установление градуировочной характеристики.

Приготовление стандартных смесей

Для построения градуировочного графика собирают мочу, не содержащую исследуемых компонентов, и готовят серию рабочих стандартных растворов.

Стандартные растворы аминосоединений и внутреннего стандарта готовят в мерных колбах вместимостью 100 $см^3$ с содержанием этих веществ 20, 30, 50, 60, 70 мг и дифенила с содержанием 100, 90, 70, 60, 50 мг в хлороформе.

Подготовка хроматографической колонки

Хроматографическую колонку перед заполнением неподвижной фазой промывают дистиллированной водой, ацетоном, гекса-

ном, высушивают в токе инертного газа. Заполнение хроматографической колонки насадкой проводят под вакуумом. Концы колонки закрывают стекловатой и, не подключая к детектору, кондиционируют в токе газа-носителя (гелия) с расходом 55 см³/мин при температуре 300 °С в течение 18 ч. После охлаждения колонку подключают к детектору, записывают нулевую линию в рабочем режиме. При отсутствии мешающих влияний колонка готова к работе.

Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику устанавливают методом внутреннего стандарта (в качестве внутреннего стандарта – дифенил). Она выражает зависимость калибровочных коэффициентов (Ki/ст) от отношения площадей пиков на хроматограмме (Si/Sст) и строится по 5 сериям стандартных растворов для градуировки. Для этого в каждую колбу вместимостью 100 см³ вносят небольшое количество хлороформа и взвешивают, затем прибавляют аминосоединения и внутренний стандарт и взвешивают колбу повторно. Объем доводят до метки хлороформом и по разности результатов первого и второго взвешиваний вычисляют массу аминосоединений и внутреннего стандарта. Срок хранения – 3 ч.

Таблица

Стандартные растворы для установления градуировочной характеристики при определении концентрации аминосоединений (фрагмент шкалы)

Номер смеси для градуировки	1	2	3	4	5
Масса АНИЛИНА в 10 мм³ хлороформа, мкг	2,0	3,0	5,0	6,0	7,0
Масса N-МЕТИЛАНИЛИНА в 10 мм³ хлороформа, мкг	2,0	3,0	5,0	6,0	7,0
Масса О-ТОЛУИДИНА в 10 мм³ хлороформа, мкг	2,0	3,0	5,0	6,0	7,0
Масса N,N-ДИМЕТИЛАНИЛИНА в 10 мм³ хлороформа, мкг	2,0	3,0	5,0	6,0	7,0
Масса N-ЭТИЛАНИЛИНА в 10 мм³ хлороформа, мкг	2,0	3,0	5,0	6,0	7,0
Масса N,N-ДИЭТИЛАНИЛИНА в 10 мм³ хлороформа, мкг	2,0	3,0	5,0	6,0	7,0
Масса ДИФЕНИЛА в 10 мм³ хлороформа, мкг	10,0	9,0	7,0	6,0	5,0

В хроматографическую колонку через испаритель вводят по 10 мм³ каждого стандартного раствора и анализируют в условиях:

температура термостата колонок 110 °С,

температура испарителя	180 °С,
температура детектора	120°С,
скорость программирования температуры	3 °С/мин,
расход газа-носителя (гелия)	55 см^3/мин,
расход водорода	33 см^3/мин,
расход воздуха	300 см^3/мин,
шкала измерителя тока	10×10^{-12}А,
скорость диаграммной ленты	240 мм/ч,
время удерживания: хлороформа	1 мин 45 с,
анилина	6 мин 15 с,
N-метиланилина	9 мин,
о-толуидина	9 мин 15 с,
N,N-диметиланилина	9 мин 50 с,
N-этиланилина	11 мин,
N,N-диэтиланилина	20 мин,
дифенила	37 мин.

На хроматограмме находят значения площадей пиков и внутреннего стандарта и вычисляют калибровочные коэффициенты на основании анализа бинарных смесей: анилин–дифенил, N-метиланилин–дифенил, о-толуидин–дифенил, N,N-диметиланилин–дифенил, N-этиланилин–дифенил и N,N-диэтиланилин–дифенил. Значение калибровочного коэффициента вычисляют по формуле:

$$Ki/cm = \frac{Scm \cdot Qi}{Si \cdot Qcm}, \text{ где}$$

Si,*Scm* – площади пиков исследуемого компонента и стандарта, мм^2;

Qi,*Qcm* – количество исследуемого компонента и стандарта, мг.

По результатам 5 измерений определяется среднее значение калибровочного коэффициента *Ki/cm* и строится градуировочный график в координатах калибровочный коэффициент—отношение площадей пиков *Si/Scm*.

Градуировку проверяют 1 раз в неделю и при смене партии реактивов.

Отбор проб

Отбор проб мочи в объеме 100 см^3 производится в тщательно вымытый стеклянный сосуд с притертой пробкой. Анализ мочи проводить сразу или хранить в холодильнике не более 12 ч после отбора пробы.

Выполнение измерений

Анализируемую пробу мочи в количестве 100 см³ помещают в делительную воронку, добавляют 30 г (хлорид натрия) и 10 см³ хлороформа. Содержимое воронки интенсивно встряхивают 15 мин, после отстаивания хлороформенный экстракт сливают в пробирку и центрифугируют для денатурации белка 20 мин. Полученный центрифугат упаривают на ротационном испарителе и проводят газохроматографический анализ.

Вычисление результатов измерений

Расчет концентрации анилина, N-метиланилина, о-толуидина, N,N-диметиланилина, N-этиланилина, N,N-диэтиланилина (мкг/см³) в биопробе вычисляют по формуле :

$$C = \frac{Si \cdot m_{cm} \cdot Ki / cm \cdot 1000}{S_{cm} \cdot V}, \text{ где}$$

C – концентрация анализируемых соединений в биопробе, мкг/см³;

Si, Scm – площади пиков компонентов и стандарта, мм²;

Ki/cm – калибровочный коэффициент;

m_{cm} – навеска стандарта, мг;

V – объем пробы, см³.

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).

Контроль сходимости выходных сигналов

Контролируемым параметром является относительный размах выходных сигналов хроматографа при вводах трех параллельных проб градуировочного раствора. Контроль осуществляется при проведении градуировки, при периодическом контроле градуировочных коэффициентов, а также при выполнении измерений.

Результат контроля признается положительным при выполнении условия:

$$\frac{S_{max} - S_{min}}{\overline{S}} \cdot 100 \leq 15\% \text{ , где}$$

S – площадь пика, мм^2;

$\overline{S}$ – среднее арифметическое значение площади пиков при вводе 3 параллельных проб градуировочного раствора.

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:

$$| X' - X - C | < K_Д \text{ , где}$$

C – добавка к пробе в виде раствора с концентрацией мкг/см^3;

$K_Д$ – норматив оперативного контроля погрешности, мкг/см^3.

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

$$K_Д = \sqrt{\Delta^2_{x'} + \Delta^2_x} \text{ , где}$$

$\Delta^2_{x'}$ и Δ^2_x – 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

$$K'_Д = 0,84 \cdot K_Д$$

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

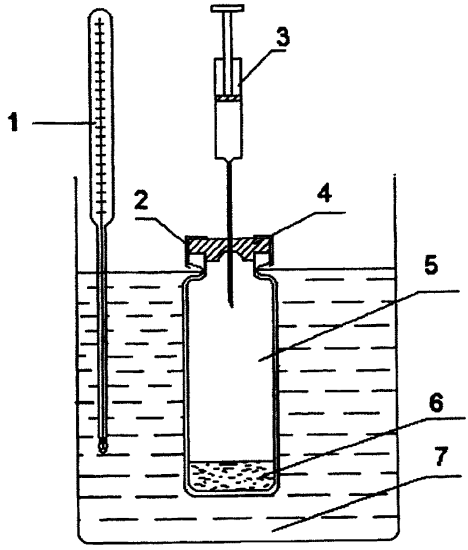


Рис. 1. Установка для создания равновесной паровой фазы.
1 – термометр; 2 – накидная гайка; 3 – шприц; 4 – резиновая мембрана; 5 – равновесный сосуд; 6 – проба; 7 – термостатируемая жидкостная баня.

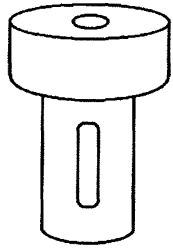
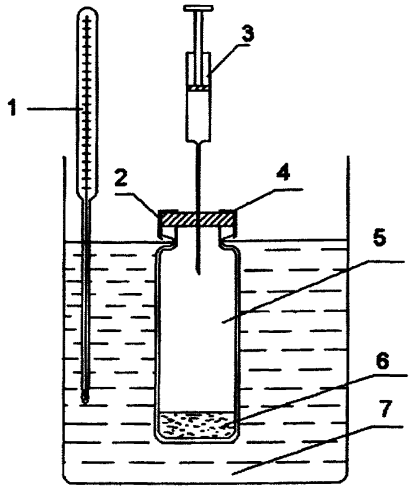


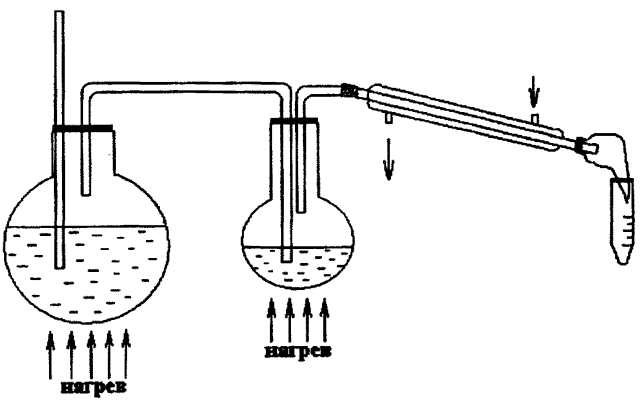
Рис. 2. Стакан с навинчивающейся крышкой для фиксации пробки на флаконе.

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

gost.e-ecolog.ru