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

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. $T_{плавл}$ – 1539 °С, $T_{кип}$ – 3200 °С, плотность – 7,87 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. $T_{плавл}$ – 419,5 °С, $T_{кип}$ – 906,2 °С, плотность – 7,14 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. $T_{плавл}$ – 1453 °С, $T_{кип}$ – 2140 °С, плотность – 8,9 г/см^3. Растворим в воде за сутки 0,15 мг%. Растворим в разбавленных кислотах. Относится к 1 классу опасности.

МЕДЬ (Cu) Атом. масса – 63,55

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

ХРОМ (Cr) Атом. масса – 51,99

Хром – твердый блестящий металл. $T_{плавл}$ – 1890 °С, $T_{кип}$ – 2480 °С, плотность – 6,92 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 нм, цинк – 213,9 нм, никель – 232,0 нм, медь – 324,4 нм, хром – 357,9 нм.

На одно элементоопределение 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 С115-М, 2.851.034-04ТО, 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 ± 10) °С;
- атмосферное давление 630—800 мм рт. ст.;
- влажность воздуха не более 80 % при температуре 25 °С.

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/см^3 путем разведения 0,1 н HNO_3 в мерной колбе вместимостью 100 см^3. Для приготовления рабочих стандартных растворов в каждую колбу вносят основной стандартный раствор с концентрацией по металлу 5 мкг/см^3 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 0,1н HNO_3.

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/см^3,

V – общий объем анализируемой пробы, см^3,

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:

$$\left|\overline{X}_1 - \overline{X}_2\right| \le 0{,}01D \cdot \overline{X}\ , \text{ где}$$

$\overline{X}_1$ – результат анализа рабочей пробы, мкг/см^3;

$\overline{X}_2$ – результат анализа этой же пробы, полученной другим аналитиком с использованием другого прибора, другой мерной посуды и другой партии реактивов, мкг/см^3;

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:

$$| X' - X - C | < K_Д, \text{ где}$$

С – добавка к пробе в виде раствора с концентрацией мкг/см³;

$K_Д$ – норматив оперативного контроля погрешности, мкг/см³.

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/см³.

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

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.

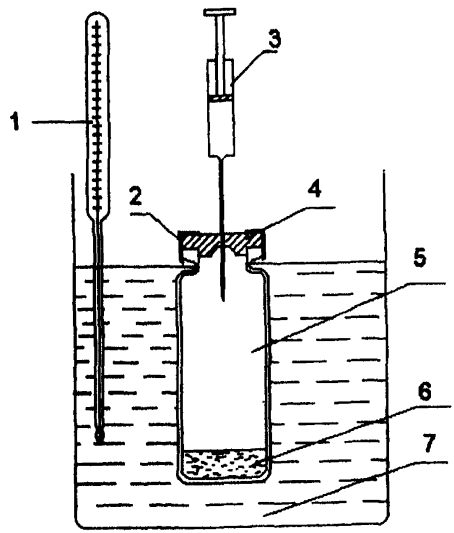


Рис. 1. Установка для создания равновесной паровой фазы.
1 – термометр; 2 – накидная гайка; 3 – шприц; 4 – резиновая мембрана; 5 – равновесный сосуд; 6 – проба; 7 – термостатируемая жидкостная баня.

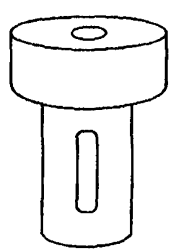
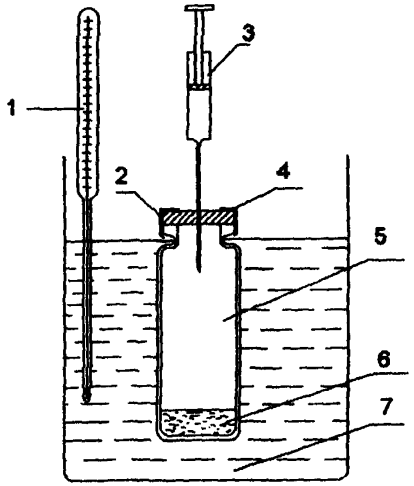


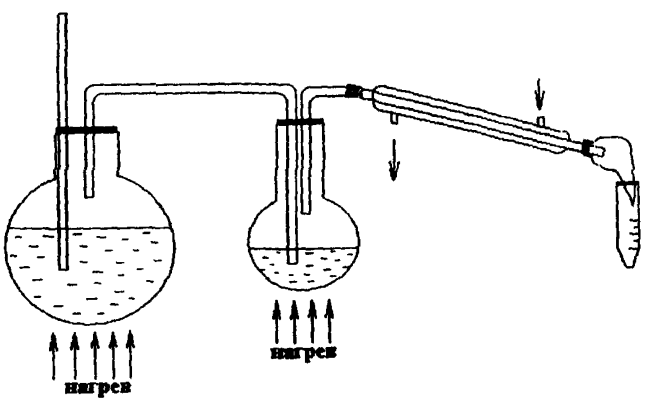
Рис. 2. Стакан с навинчивающейся крышкой для фиксации пробки на флаконе.

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