Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение вредных веществ в биологических средах

Сборник методических указаний
МУК 4.1.2102—4.1.2116—06

Издание официальное

Москва • 2008

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение вредных веществ в биологических средах

Сборник методических указаний
МУК 4.1.2102—4.1.2116—06

Определение вредных веществ в биологических средах: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008.—183 с.

1. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 11.07.06 № 2).

2. Утверждены и введены в действие Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 9 августа 2006 г.

3. Введены впервые.

ББК 28.072

© Роспотребнадзор, 2008
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008

Содержание

Измерение массовой концентрации селена в моче методом атомно-абсорбционной спектрометрии: МУК 4.1.2102—06.....4
Определение массовой концентрации ванадия в пробах крови методом атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизацией: МУК 4.1.2103—06 14
Определение массовой концентрации меди, магния, кадмия в пробах мочи методом атомно-абсорбционной спектрометрии: МУК 4.1.2104—06.....25
Определение массовой концентрации марганца, свинца, магния в пробах волос методом атомно-абсорбционной спектрометрии: МУК 4.1.2105—06 37
Определение массовой концентрации марганца, свинца, магния в пробах крови методом атомно-абсорбционной спектрометрии: МУК 4.1.2106—06.....50
Определение массовой концентрации фенола в биосредах (моча) газохроматографическим методом: МУК 4.1.2107—06.....63
Определение массовой концентрации фенола в биосредах (кровь) газохроматографическим методом: МУК 4.1.2108—06.....74
Определение массовой концентрации 2-хлорфенола в биосредах (моча) газохроматографическим методом: МУК 4.1.2109—06.....85
Определение массовой концентрации формальдегида, ацетальдегида, пропионового альдегида, масляного альдегида и ацетона в пробах мочи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2110—06.....96
Измерение массовой концентрации формальдегида, ацетальдегида, пропионового альдегида, масляного альдегида и ацетона в пробах крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2111—06.....110
Определение массовой концентрации хлороформа, 1,2-дихлорэтана, тетрахлорметана, хлорбензола в биосредах (кровь) газохроматографическим методом: МУК 4.1.2112—06.....125
Определение массовой концентрации хлороформа, 1,2-дихлорэтана, тетрахлорметана в биосредах (моча) методом газохроматографического анализа равновесного пара: МУК 4.1.2113—06.....137
Определение массовой концентрации хлороформа, 1,2-дихлорэтана, тетрахлорметана, хлорбензола в биосредах (моча) газохроматографическим методом: МУК 4.1.2114—06.....149
Определение массовой концентрации хлороформа, 1,2-дихлорэтана, тетрахлорметана в биосредах (кровь) методом газохроматографического анализа равновесного пара: МУК 4.1.2115—06.....162
Определение массовой концентрации стирола в пробах крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2116—06.....174

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
9 августа 2006 г.
Дата введения: 1 сентября 2006 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение массовой концентрации стирола в пробах крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2116—06

1. Область применения

Методические указания по определению концентрации стирола в крови предназначены для использования Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лечебными и научными учреждениями, работающими в области профпатологии и экологии человека, научно-исследовательскими институтами, занимающимися вопросами гигиены окружающей среды.

Методические указания разработаны с целью обеспечения контроля за содержанием стирола в биологических средах у населения, проживающего в районах с повышенным уровнем загрязнения окружающей среды.

Методические указания разработаны в соответствии с требованиями ГОСТ Р 8.563—96 «ГСОЕИ. Методики выполнения измерений», ГОСТ Р 1.5—92 «ГСС. Общие требования к построению, изложению, оформлению и содержанию стандартов». Методика выполнения измерений обеспечивает определение стирола в диапазоне концентраций 0,1—5,0 мкг/см^3 с погрешностью, не превышающей 23 %, при доверительной вероятности $P = 0,95$.

$C_6H_5CHCH_2$ Молекулярная масса: 103,07

Стирол (винилбензол, фенилэтилен) – бесцветная жидкость с резким запахом. Температура кипения: 145 °С, плотность 0,9059. Растворяется в большинстве органических растворителей, растворимость в воде 0,032 % по объему (20 °С) [1]. Стирол оказывает общетоксическое, сенсибилизирующее, эмбриотропное, раздражающее действия, отрицательно влияет на ЦНС, обладает кумулятивным эффектом [2].

2. Сущность метода

Методика основана на извлечении стирола из крови экстракцией гексаном и анализе экстракта на жидкостном хроматографе.

Измерение концентрации стирола выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием УФ-детектора.

Нижний предел измерения – 0,001 мкг.

Определению не мешают фенол, бензол, толуол, этилбензол, ксилолы, карбоновые кислоты.

Длительность анализа, включая пробоподготовку – 20 мин.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы.

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с насосом высокого давления и ультрафиолетовым детектором	
Весы лабораторные ВЛР-200 аналитические	ГОСТ 24104—01
Гири $Г_2$-210	ГОСТ 7328—01
Микрошприцы МШ-10	ТУ 2.833.106—00
Колбы мерные, вместимостью 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки градуированные, вместимостью 1, 5, 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Редуктор кислородный	ТУ 26-05-236—73
Аттестованная смесь стирола в этиловом спирте с концентрацией 1,00 $мг/см^3$	ГСО МСО 0056.1998

3.2. Вспомогательные устройства

Колонка стеклянная длиной 150 мм и внутренним диаметром 3,3 мм, заполненная сорбентом Separon SGX C_{18} зернением 7 мкм	
Центрифуга ЦЛМН-Р10-01-«Элекон»	ТУ 9443-001-245.23530—97
Экстрактор ПЭ-8	ТУ 3614-001-23050963—97

Дистиллятор	ТУ 61-1-721—79
Сушильный шкаф ШСС-80	ТУ 16.531.743—83
Воронки делительные, вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Воронка Шотта (пор 16)	ГОСТ 25336—82
Бюксы СВ 19/9	ТУ 92-891.029—91
Пробирки центрифужные пропиленовые с завинчивающейся крышкой, производство «Sarstedt», Германия	

3.3. Реактивы

Гексан для хроматографии, осч	ТУ 6-09-4521—77
Ацетонитрил для жидкостной хроматографии, осч	ТУ 6-09-14-2167—84
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—72
Гидроксид натрия, хч	ГОСТ 4328—77
Спирт этиловый	ГОСТ Р 51652—2000
Серная кислота	ГОСТ 4204—77
Калия дихромат, хч	ГОСТ 4220—75
Раствор гепарина в ампулах (5 000 ед. в 1 $см^3$)	

3.4. Материалы

Гелий газообразный	ТУ 51-940—80

3.5. Растворы

Элюент для хроматографии
Раствор гидроксида натрия, 10 %-й
Раствор дихромата калия в серной кислоте, 3 %-й

Допускается применение других типов средств измерений, вспомогательного оборудования, химреактивов и материалов, по метрологическим и техническим характеристикам не уступающих перечисленным.

4. Требования к безопасности

4.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007—76 и ГОСТ 12.1.005—88.

4.2. При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79, противопожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и меры безопасности, указанные в «Руководстве по правилам эксплуатации прибора».

5. Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже инженера-химика и владеющие техникой жидкостно-хроматографического анализа.

6. Условия измерений

6.1. При подготовке проб к анализу и приготовлении растворов соблюдают следующие условия:

- температура воздуха 15—25 °С;
- атмосферное давление 630—800 мм рт. ст.;
- влажность воздуха не более 80 % при температуре 25 °С.

6.2. Выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендуемых технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

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

7.1. Подготовка посуды

Используемую посуду замочить на 1 ч в свежеприготовленном 3 %-м растворе двухромовокислого калия в серной кислоте, отмыть в проточной водопроводной воде, ополоснуть дистиллированной водой и просушить при температуре 120 °С.

7.2. Приготовление растворов

7.2.1. *Элюент для хроматографии*. Смешивают 60 см^3 ацетонитрила с 40 см^3 дистиллированной воды. Подвижную фазу фильтруют через воронку Шотта (пор 16) и дегазируют барботированием гелия в течение 3—5 мин со скоростью 50—60 см^3/мин.

7.2.2. *Раствор гидроксида натрия 10 %-й*. Вносят в мерный стакан с меткой на 100 см^3 10 г гидроксида натрия, прибавляют 90 см^3 дистиллированной воды и перемешивают содержимое стакана до полного растворения гидроксида натрия. Срок хранения раствора – 30 дней при 4 °С.

7.2.3. *Раствор двухромовокислого калия в серной кислоте 3 %-й*. Растворяют 3,0 г двухромовокислого калия в 53 см^3 концентрированной серной кислоты (плотность 1,84). Использовать свежеприготовленный раствор.

7.3. Подготовка хроматографической колонки

Колонку устанавливают в хроматограф и подают элюирующую жидкость, подготовленную в соответствии с п. 7.2.1, со скоростью 0,6 $см^3$/мин до установления равновесия колонки, которое определяют по стабильности нулевой линии детектора.

7.4. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика на хроматограмме от концентрации стирола в крови, устанавливают по шести сериям растворов для градуировки. Каждую серию, состоящую из трех растворов, готовят разбавлением аттестованной смеси стирола в этиловом спирте (растворы А, Б).

7.4.1. *Приготовление раствора А*: 1 $см^3$ аттестованной смеси стирола в этиловом спирте с концентрацией 1,0 мг/$см^3$ вносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят дистиллированной водой до метки. Используют свежеприготовленный раствор.

7.4.2. *Приготовление раствора Б*: 10 $см^3$ аттестованной смеси стирола в этиловом спирте с концентрацией 1,0 мг/$см^3$ вносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят дистиллированной водой до метки. Используют свежеприготовленный раствор.

7.4.3. В соответствии с п. 8 проводят анализ образца крови на отсутствие стирола. Объем образца крови для приготовления градуировочных смесей должен быть не менее 12 $см^3$. Образец крови с гепарином (из расчета 0,05 $см^3$ гепарина на 2 $см^3$ крови) может храниться 2 дня при температуре 4 °С.

7.4.4. Для установления градуировочной характеристики в 2 $см^3$ крови добавляют 0,05 $см^3$ раствора гепарина, вносят раствор А или Б в соответствии с табл. 1 и помещают в делительную воронку, в которую добавляют 40 $см^3$ дистиллированной воды, 0,2 $см^3$ 10 %-го раствора щелочи NaOH и 2 $см^3$ гексана. Содержимое воронки перемешивают экстрактором со скоростью 2 500 об./мин в течение 45 с. После расслоения жидкостей переносят гексановый экстракт в центрифужную пробирку с крышкой и центрифугируют в течение 5 мин при скорости 1 500 об./мин. Аликвотную часть экстракта в количестве 10 $мм^3$ вводят в колонку хроматографа и анализируют в рабочем режиме прибора.

Таблица 1

Растворы для установления градуировочной характеристики при определении концентрации стирола в крови

Номер раствора	1	2	3	4	5	6
Объем раствора А, мм^3 (C = 0,01 мг/см^3)	20,0	40,0	100,0	–	–	–
Объем раствора Б, мм^3 (C = 0,10 мг/см^3)	–	–	–	20,0	50,0	100,0
Массовая концентрация стирола в крови, мг/дм^3	0,1	0,2	0,5	1,0	2,5	5,0

Режим работы хроматографа:

колонка стеклянная длиной 150 мм и внутренним диаметром 3,3 мм, заполненная сорбентом Separon SGX C_{18};

подвижная фаза – ацетонитрил/вода в соотношении 60 : 40;

скорость подвижной фазы – 0,6 см^3/мин;

длина волны УФ-детектора 254 нм;

время выхода стирола в заданных условиях – 6 мин.

Градуировочную характеристику устанавливают с помощью градуировочного коэффициента, который рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{\sum_{i=1}^{n} C_i / S_i}{n}, \text{ где}$$

C_i – заданная концентрация стирола в градуировочной смеси, мг/дм^3;

S_i – среднее значение трех измерений площади пика, мм^2 или единицы оптической плотности (е.о.п);

n – количество градуировочных смесей (n = 6).

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

7.5. Отбор проб

Отбор проб венозной крови в объеме 4 см^3 производят в тщательно вымытую стеклянную пробирку с притертой пробкой, в которую предварительно вносят 0,1 см^3 раствора гепарина. Срок хранения проб в холодильнике не более 2-х суток.

8. Выполнение измерений

Проводят два параллельных измерения образца крови: 2 см^3 крови помещают в делительную воронку, в которую добавляют 40 см^3 дистиллированной воды, 0,2 см^3 10 %-го раствора щелочи NaOH и 2 см^3 гексана. Перемешивают содержимое воронки экстрактором со скоростью

2 500 об./мин в течение 45 с. После расслоения жидкостей переносят гексановый экстракт в центрифужную пробирку с завинчивающейся крышкой и центрифугируют в течение 5 мин при скорости 1 500 об./мин. Аликвотную часть экстракта в количестве 10 мм^3 вводят в колонку хроматографа и анализируют в рабочем режиме хроматографа, указанном в п. 7.4.4.

Идентификация хроматографического пика стирола проводится путем сопоставления времен удерживания хроматографических пиков в стандартном растворе стирола и в анализируемой пробе.

9. Вычисление результатов измерения

Концентрацию стирола в крови (мг/дм^3) вычисляют по формуле:

$$X = S_i \cdot K \text{, где}$$

X – концентрация стирола в анализируемой пробе, мг/дм^3;

S_i – площадь пика стирола на хроматограмме, мм^2 или е.о.п;

K – градуировочный коэффициент.

За результат измерения принимают среднее арифметическое значение двух параллельных определений X_{max}, X_{min}, расхождение между которыми не должно превышать значения предела повторяемости r_n (табл. 2).

Результат измерения представляют в виде $\left(\overline{X} \pm \Delta\right)$ мг/дм^3, где

$\overline{X}$ – средний результат анализа, мг/дм^3, $\overline{X} = \dfrac{X_{max} + X_{min}}{2}$

Δ – характеристика погрешности, мг/дм^3, при P = 0,95 равная:

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \overline{X}}{100} \text{, где}$$

δ – относительное значение характеристики погрешности, %.

10. Внутренний контроль качества результатов измерений

Внутренний контроль качества (ВКК) результатов измерений – повторяемость, внутрилабораторная прецизионность (воспроизводимость), точность – осуществляют с целью получения оперативной информации о качестве результатов измерений и принятия при необходимости оперативных мер по его повышению в соответствии с нормативным документом МИ 2335—2003 «ГСОЕИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа».

Методика выполнения измерений обеспечивает получение результатов измерений с нормативами, не превышающими значений, приведенных в табл. 2 и 3.

Таблица 2

Значения пределов повторяемости и воспроизводимости при доверительной вероятности $P = 0,95$

Наименование определяемого компонента и диапазон измерений, мг/дм^3	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r_n, %	Предел внутрилабораторной воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в одной лаборатории, но в разных условиях), $R_{\overline{X}_\ell}$, %
Стирол, от 0,1 до 5,0 вкл.	26,5	27,6

Таблица 3

Диапазон измерений, значения показателей точности, повторяемости, воспроизводимости

Наименование определяемого компонента и диапазон измерений, мг/дм^3 (мкг/см^3)	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при вероятности $P = 0,95$), $\pm \delta$, %
Стирол, от 0,1 до 5,0 вкл.	10,0	13,5	23,0

10.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят 1 раз в квартал в анализируемой серии измерений. Определяют содержание исследуемого соединения в градуировочных растворах, которые соответствует началу, середине и концу диапазона измерений. Градуировка признается стабильной, если расхождение между заданным и измеренным значением концентраций не превышает 5 %.

10.2. Контроль повторяемости

Относительное расхождение между результатами двух измерений, выполненных в соответствии с методикой одним оператором при измерении образцов одной и той же рабочей пробы, с использованием одних и тех же средств измерений и реактивов в течение возможно минимального интервала времени, не должно превышать значения предела повторяемости r_n (табл. 2).

Повторяемость результатов параллельных определений признают удовлетворительной, если выполняется условие:

$$X_{\max} - X_{\min} \le \frac{r_n}{100} \cdot \frac{X_{\max} + X_{\min}}{2}, \text{ где}$$

r_n – значение предела повторяемости, %;

X_{max}, X_{min} – максимальный и минимальный результаты двух параллельных измерений содержания *i*-го вещества, мг/дм^3.

Если условие не выполняется, эксперимент повторяют. При повторном получении отрицательного результата выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

10.3. Контроль воспроизводимости

Внутренний контроль качества воспроизводимости проводят с использованием рабочей пробы. Пробу делят на две равные части и анализируют в соответствии с методикой, максимально варьируя условия проведения анализа (разные операторы, разное время, разные партии реактивов одного типа, разные наборы мерной посуды и т. д.). Воспроизводимость результатов контрольных измерений признают удовлетворительной, если выполняется условие:

$$\left|\overline{X}_1 - \overline{X}_2\right| \le \frac{R_{\overline{X}_\ell}}{100} \cdot \frac{\overline{X}_1 + \overline{X}_2}{2}, \text{ где}$$

$\overline{X}_1$ – средний результат анализа рабочей пробы из 2-х параллельных измерений, мг/дм^3;

$\overline{X}_2$ – средний результат анализа рабочей пробы из 2-х параллельных измерений, полученный в других условиях, мг/дм^3;

$R_{\overline{X}_\ell}$ – значение предела внутрилабораторной воспроизводимости, % (табл. 2).

Расхождение между результатами измерений $\overline{X}_1$ и $\overline{X}_2$, полученных в разных условиях, не должно превышать значений показателя воспроизводимости $R_{\overline{X}_\ell}$ при доверительной вероятности $P = 0{,}95$, указанных в табл. 2.

Если условие не выполняется, эксперимент повторяют. При повторном получении отрицательного результата выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

10.4. Контроль точности

Контроль точности с использованием метода добавок состоит в сравнении результата контрольной процедуры, равного разности между

результатом контрольного измерения содержания определяемого компонента в пробе с известной добавкой ($\overline{X'}$), в рабочей пробе без добавки ($\overline{X}$)и величиной добавки $C_д$ (добавка должна составлять не менее 40 % от содержания анализируемого компонента в рабочей пробе) с нормативом точности K. Результаты контроля признаются удовлетворительными, если выполняется условие:

$$\left|\overline{X'} - \overline{X} - C_д\right| = K_k, \text{ где}$$

$\overline{X'}$ – средний результат контрольного измерения содержания определяемого компонента в рабочей пробе с известной добавкой из 2-х параллельных измерений, мг/дм^3;

$\overline{X}$ – средний результат контрольного измерения содержания определяемого компонента в рабочей пробе из 2-х параллельных измерений, мг/дм^3;

$C_д$ – величина добавки к пробе, мг/дм^3.

$$K = 0{,}84 \cdot \sqrt{\left(\frac{\delta}{100} \cdot \overline{X}\right)^2 + \left(\frac{\delta}{100} \cdot \overline{X'}\right)^2}$$

Качество контрольной процедуры признают удовлетворительной при выполнении условия: $K_k \le K$.

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

Периодичность контроля воспроизводимости и точности регламентируется в руководстве по качеству лаборатории.

Литература

1. Химическая энциклопедия /Под. ред. Н. С. Зефирова. М.: «Большая российская энциклопедия», 1995. Т. 4.

2. Лазарев Н. В. Вредные вещества в промышленности. Органические вещества: Справочник. М.: «Химия», 1976. Т. 1. С. 113—117.

Методические указания разработаны Пермским научно-исследовательским клиническим институтом детской экопатологии (Т. С. Уланова, Т. Д. Карнажицкая).

gost.e-ecolog.ru