Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение химических соединений и элементов в биологических средах

Сборник методических указаний
МУК 4.1.3056—13, 4.1.3057—13
МУК 4.1.3158—4.1.3161—14
МУК 4.1.3230—4.1.3233—14

Издание официальное

Москва • 2015

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение химических соединений и элементов в биологических средах

Сборник методических указаний
МУК 4.1.3056—13, 4.1.3057—13
МУК 4.1.3158—4.1.3161—14
МУК 4.1.3230—4.1.3233—14

ББК 28.072
О62

О62 **Определение** химических соединений и элементов в биологических средах: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015.—168 с.

ISBN 978—5—7508—1415—2

1. Сборник подготовлен творческим коллективом авторов в составе: д.б.н., проф. А. Г. Малышева (руководитель), к.б.н. А. А. Ермаков, В. А. Шохин (ФГБУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А. Н. Сысина» Минздрава России).

2. Методические указания рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Методические указания утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой.

4. Введены впервые.

ББК 28.072

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 17.12.15

Формат 60x84/16 Печ. л. 10,5
Тираж 125 экз. Заказ 87

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
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а

Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2015
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015

Содержание

Введение 4

Измерение массовых концентраций винилхлорида и 1,2-дихлорэтана в пробах крови методом газохроматографического анализа равновесного пара: МУК 4.1.3056—13 5

Измерение массовой концентрации хлорэтанола в пробах крови методом капиллярной газовой хроматографии: МУК 4.1.3057—13 18

Измерение массовой концентрации акролеина в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3158—14 31

Измерение массовой концентрации акрилонитрила в крови методом капиллярной газовой хроматографии: МУК 4.1.3159—14 45

Измерение массовых концентраций фталатов (диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата) в молоке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3160—14 60

Измерение массовых концентраций свинца, кадмия, мышьяка в крови методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой: МУК 4.1.3161—14 76

Измерение массовых концентраций химических элементов в биосредах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой: МУК 4.1.3230—14 96

Измерение массовых концентраций N-нитрозоаминов (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодиэтиламин) в моче методом капиллярной газовой хроматографии: МУК 4.1.3231—14 123

Измерение массовой концентрации акролеина в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3232—14 137

Измерение массовых концентраций 2,4-дихлорфенола и 2,4,6-трихлорфенола в крови методом капиллярной газовой хроматографии: МУК 4.1.3233—14 151

МУК 4.1.3056—13, 4.1.3057—13, 4.1.3158—4.1.3161—14,
4.1.3230—4.1.3233—14

Введение

Включенные в сборник 10 методических указаний по определению химических соединений в биологических средах предназначены для использования в химико-аналитических исследованиях при проведении биомониторинга состояния здоровья населения, для практического использования в рамках социально-гигиенического мониторинга на территориях с высокой антропогенной нагрузкой, а также могут быть использованы для диагностических целей в рамках осуществления государственного санитарного надзора, контроля, экспертизы, расследований. Методические указания предназначены для специалистов химико-аналитических лабораторий системы Роспотребнадзора, научно-исследовательских институтов, работающих в области экологии человека, гигиены окружающей среды и защиты прав потребителей.

Методические указания, включенные в сборник, разработаны и подготовлены в соответствии с требованиями ГОСТ Р 8.563—96 «Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений», ГОСТ Р 1.5—92 «ГСС. Общие требования к построению, изложению, оформлению и содержанию стандартов», МИ 2335—95 «Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа», МИ 2336—95 «Характеристики погрешности результатов количественного химического анализа. Алгоритм оценивания».

Все методики измерения прошли метрологическую аттестацию в соответствии с правилами ПР 50.2.002—94 «ГСИ. Порядок осуществления государственного метрологического надзора за выпуском, состоянием и применением средств измерений, аттестованными методиками выполнения измерений, эталонами и соблюдением метрологических правил и норм».

В методических указаниях, включенных в сборник, приведены методы определения 15 органических соединений и 15 тяжелых металлов и элементов в биологических средах, в том числе 9 веществ и 15 элементов – в крови, 3 вещества и 12 элементов – в моче и 5 веществ – в молоке. Определение токсичных веществ и элементов основано на использовании современных высокочувствительных методов физико-химического анализа – капиллярной газовой хроматографии и газохроматографическом анализе равновесного пара, высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

Методические указания одобрены и рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека – Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
19 декабря 2014 г.

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение массовой концентрации акролеина в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3232—14

Свидетельство о метрологической аттестации № 88-16374-096-01.00076-2013 от 15.11.2013.

1. Назначение и область применения

1.1. Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для измерения массовой концентрации акролеина в моче в диапазоне концентраций от 0,04 до 2 мг/дм^3.

1.2. Методические указания по измерению массовой концентрации акролеина в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии предназначены для использования территориальными органами и службами Роспотребнадзора, лечебными и научными учреждениями, осуществляющими деятельность в области профпатологии и экологии человека, научно-исследовательскими институтами, занимающимися вопросами гигиены окружающей среды.

1.3. Методические указания носят рекомендательный характер.

2. Физико-химические и токсикологические свойства

Акролеин (акриловый альдегид, этиленальдегид, 2-пропеналь) – бесцветная, легко воспламеняющаяся слезоточивая жидкость с резким запахом. Выделяется в атмосферный воздух с отработавшими газами

автотранспорта, в процессе горения органического топлива, при приготовлении пищи (жарение, копчение). Относится к опасным веществам. Гигиенический норматив в Российской Федерации не установлен.

Регистрационный номер CAS	107-02-8
Формула	C_3H_4O
Молекулярная масса	56,06
$T_{пл.}$, °С	–87,7
$T_{кип.}$, °С	52,7
Плотность при 20 °С, г/см^3	0,8389
Растворимость в воде при 20 °С, %	20,85
Растворим	в этаноле, ацетонитриле, ацетоне, диэтиловом эфире
Давление насыщенных паров при 20 °С, кПа	29
ПДК, мг/дм^3	отсутствует
Класс опасности	2

Краткая токсикологическая характеристика. Обладает выраженным раздражающим, общетоксическим, аллергенным, мутагенным действием. Угнетает синтез ДНК и клеточное деление, ингибирует ДНК-полимеразу. Оказывает цитотоксическое действие.

3. Метрологические характеристики методики выполнения измерений

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. 1.

Таблица 1

Диапазон измерений, значения точности (правильности и прецизионности) методики

Объект измерения	Диапазон измерений массовой концентрации акролеина, мг/дм^3	Показатель точности (границы относительной погрешности), $\pm\delta$, % при $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %
Моча	0,04—2	22	4	11

Значения показателя точности используют:

- при оформлении результатов измерений, выдаваемых лабораторией;
- при оценке деятельности лабораторий на качество проведения измерений;
- при оценке возможности использования результатов измерений при реализации методики измерений в конкретной лаборатории.

4. Метод измерения

Измерение массовой концентрации акролеина в моче основано на взаимодействии акролеина с 3-аминофенолом с образованием производного 7-гидроксихинолина и его анализе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на обращенной фазе и флуориметрическом детектировании.

Нижний предел измерения в анализируемом объеме пробы – 0,8 нг.

5. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

5.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с флуориметрическим детектором и градиентным насосом, смешивающим два компонента	
Весы лабораторные равноплечие 2-го класса точности; наибольший предел взвешивания 200 г, диапазон взвешивания по шкале мг от 0 до 100 мг, цена деления делительного устройства – 0,05 мг, погрешность взвешивания по шкале мг ± 0,15 мг	ГОСТ Р 53228—08
Гири	ГОСТ 7328—01
Пипетки мерные градуированные 1-2-1-1, 1-2-1-5, 1-2-1-10	ГОСТ 29227—91
Микрошприцы ёмкостью 10 мм^3 с ценой деления 0,2 мм^3	ТУ 2.833.106—2000
Колбы мерные 2-25-2, 2-50-2, 2-100-2	ГОСТ 1770—74
Пробирки стеклянные мерные П-2-10-14/23 ХС	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные 2-100-1 с пришлифованной пробкой	ГОСТ 1770—74
Микродозаторы, с переменным объемом 5—50 мм^3, 2—200 мм^3, 100—1 000 мм^3, 1 000—	

5 000 мм^3 и пределом допускаемой погрешности измерения не более ± 2 %	
pH-метр лабораторный (основная погрешность измерения не более ± 0,05 единиц pH)	
Секундомер механический	ГОСТ 5072—72

Примечание. Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

5.2. Реактивы

Акролеин, аналитический стандарт с содержанием основного компонента не менее 99,0 %	
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—72
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14-2167—84
Метанол (метиловый спирт), хч	ГОСТ 6995—77
Этанол (этиловый спирт) ректификованный	ГОСТ Р 51652—2000
Кислота хлористоводородная, ампулы для приготовления 0,1н раствора, стандарт-титр	
Кислота ортофосфорная, хч	ГОСТ 6552—80
Кислота серная, осч	ГОСТ 14262—78
3-Аминофенол для синтеза (имп.), чистота не менее 99,0 %	
Железа (III) сульфат (девятиводный), хч	ТУ 2141-002-58318296—05
Гидроксиламина гидрохлорид, ч	ГОСТ 5456—79
7-Гидроксихинолин, чистота не менее 99,0 %	

Примечание. Допускается использование реактивов с болсе высокой квалификацией.

5.3. Вспомогательные устройства и материалы

Хроматографическая колонка металлическая длиной 150 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, заполненная обращенно-фазным сорбентом с привитыми полярными группами C_{18}, зернение 5 мкм

Предколонка длиной 12,5 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, заполненная обращенно-фазным сорбентом с привитыми полярными группами C_{18}, зернение 5 мкм

Сорбент для хроматографии C_{18}

Шкаф сушильный электрический с диапазоном рабочих температур от 50 до 200 °С

Центрифуга лабораторная с частотой вращения ротора от 500 до 2 700 об./мин	
Устройство очистки воды, позволяющее получать воду чистоты «для жидкостной хроматографии»	
Баня водяная лабораторная от 15 до 100 °С	
Стаканы В-1-50-ТС, В-1-600-ТС вместимостью 50 и 600 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Мешалка магнитная от 120 до 1 500 об./мин	
Пробирка из полипропилена коническая градуированная вместимостью 15 $см^3$	
Шприц медицинский одноразовый из полипропилена вместимостью 5 $см^3$	ГОСТ Р ИСО 7886—09
Фильтр мембранный целлюлозно-ацетатный с размером пор 0,45 мкм	

Примечание. Допускается использование других вспомогательных устройств и материалов аналогичного назначения, технические характеристики которых не уступают указанным.

6. Требования безопасности

6.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на эксплуатацию жидкостного хроматографа.

6.2. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией и соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83.

6.3. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07.

7. Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений и обработке их результатов допускают лиц, имеющих квалификацию не ниже инженера-химика с опытом работы на жидкостном хроматографе, освоивших метод измерений и получивших удовлетворительные результаты оперативного контроля процедуры измерений.

8. Условия измерений

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

– температура окружающего воздуха (22 ± 2) °С;
– атмосферное давление от 84 до 106 кПа;
– относительная влажность воздуха от 30 до 80 %.

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

9. Подготовка к выполнению измерений

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

9.1. Подготовка посуды

Используемую посуду вымыть мыльным раствором, промыть проточной водопроводной водой, многократно ополоснуть дистиллированной водой и высушить при температуре 105 °С.

9.2. Приготовление растворов

9.2.1. Раствор для элюирования А. 500 см^3 дистиллированной воды вносят в стакан вместимостью 600 см^3, устанавливают на магнитную мешалку, помещают в раствор электроды pH-метра, небольшими порциями с помощью стеклянной пипетки вносят при перемешивании концентрированную ортофосфорную кислоту до установления pH 2,5. Срок хранения раствора 5 дней.

9.2.2. Раствор для элюирования В. 25 см^3 метанола помещают в мерный цилиндр вместимостью 100 см^3, доводят до метки ацетонитрилом, закрывают пришлифованной стеклянной пробкой, тщательно перемешивают. Срок хранения раствора 5 дней.

9.2.3. Элюент для хроматографии. Состав элюента задают на двух каналах насоса: смешивают *раствор для элюирования А* и *раствор для элюирования В* в соотношении (94 : 6) % (объемная доля).

9.2.4. Раствор 3-аминофенола, молярная концентрация 0,023 моль/дм^3. В мерную колбу вместимостью 50 см^3 помещают навеску 0,1255 г 3-аминофенола, растворяют в 40—45 см^3 дистиллированной воды при температуре 40—50 °С, остужают до комнатной температуры, доводят дистиллированной водой до метки. Срок хранения раствора 30 дней в холодильнике при температуре 4—6 °С.

9.2.5. Раствор гидроксиламина гидрохлорида, молярная концентрация 0,043 моль/дм^3. В мерную колбу вместимостью 50 см^3 помещают навеску 0,1494 г гидроксиламина гидрохлорида, растворяют в 40—45 см^3 дистиллированной воды, доводят дистиллированной водой до метки. Срок хранения раствора 30 дней в холодильнике при температуре 4—6 °С.

9.2.6. Раствор железа (III) сульфата, массовая концентрация 2,8 мг/см^3. В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают навеску 0,28 г железа (III) сульфата, девятиводного, растворяют в 50—60 см^3 дистиллированной воды, добавляют 1 см^3 серной кислоты концентрированной, доводят до метки дистиллированной водой. Срок хранения раствора не ограничен.

9.2.7. Раствор серной кислоты в дистиллированной воде, 16 % (объемная доля). В термостойкий стакан вместимостью 50 см^3 помещают 10 см^3 дистиллированной воды и 2 см^3 серной кислоты концентрированной. Осторожно перемешивают, остужают до комнатной температуры. Срок хранения раствора не ограничен.

9.2.8. Исходный раствор акролеина (раствор 1). В мерную колбу вместимостью 50 см^3 помещают 40—45 см^3 спирта этилового, 50 мм^3 стандарта акролеина и доводят этиловым спиртом до метки. Массовая концентрация акролеина в исходном растворе – 0,84 мг/см^3. Срок хранения раствора 14 дней в холодильнике при температуре 4—6 °С.

9.2.9. Раствор акролеина для градуировки (раствор 2). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 40—45 см^3 спирта этилового, 1 см^3 исходного раствора акролеина и доводят этиловым спиртом до метки. Массовая концентрация акролеина в разбавленном растворе составляет 0,0084 мг/см^3. Используют свежеприготовленный раствор.

9.2.10. Раствор 7-гидроксихинолина для идентификации продукта реакции акролеина с 3-аминофенолом. В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают навеску 0,0100 г 7-гидроксихинолина, растворяют в 5—6 мл раствора 0,1 н хлористоводородной кислоты, доводят до метки дистиллированной водой. Концентрация 7-гидроксихинолина в растворе составляет 100 мкг/см^3. Срок хранения раствора 60 дней в холодильнике при температуре 4—6 °С.

9.3. Подготовка хроматографической колонки

Колонку устанавливают в хроматограф, подают ацетонитрил со скоростью 0,2 см^3/мин в течение 0,5 часа, затем подают элюент состава: 94 % (объемная доля) раствора для элюирования А, 6 % (объемная доля) раствора для элюирования В со скоростью 0,2 см^3/мин до установления

равновесия колонки, которое определяют по стабильности нулевой линии детектора. Проводят холостую разгонку с установлением ступеней градиента: 6 мин – 6 % раствора В, 13 мин – 8 % раствора В, 17 мин – 10 % раствора В, 22 мин – 20 % раствора В с увеличением скорости подвижной фазы до 0,5 $см^3$/мин, 36 мин – остановка разгонки.

9.4. Установление градуировочной характеристики

9.4.1. Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика 7-гидроксихинолина (дериват акролеина) от массовой концентрации акролеина в моче устанавливают методом абсолютной градуировки по трем сериям растворов. Каждую серию, состоящую из пяти градуировочных растворов, готовят из растворов для градуировки № 1 и 2, приготовленных по п.п. 9.2.8., 9.2.9.

9.4.2. Градуировочные растворы готовят в мерных колбах вместимостью 25 $см^3$. Для этого в каждую колбу вносят растворы акролеина для градуировки № 1 и 2 в соответствии с табл. 2, доводят до метки мочой и перемешивают. В соответствии с п. 10.2 проводят анализ холостой пробы мочи на содержание акролеина. При наличии акролеина в холостой пробе вычитают его фоновое содержание при построении градуировочного графика.

Таблица 2

Градуировочные растворы для определения акролеина в моче

Номер раствора	1	2	3	4	5
Объем раствора акролеина для градуировки № 2 (C = 0,0084 мг/$см^3$), $мм^3$	120	240	480	–	–
Объем раствора акролеина для градуировки № 1 (C = 0,84 мг/$см^3$), $мм^3$	–	–	–	15	60
Массовая концентрация акролеина в моче, мг/$дм^3$	0,04	0,08	0,16	0,50	2,0

9.4.3. Приготовленный раствор акролеина в моче в количестве 10 $см^3$ переносят в коническую пробирку из полипропилена, центрифугируют со скоростью 2 000 об./мин в течение 10 мин, отбирают 2 $см^3$ верхнего слоя в мерную стеклянную пробирку и проводят реакцию дериватизации, добавляя в пробирку 0,5 $см^3$ раствора 3-аминофенола, 0,5 $см^3$ раствора гидроксиламина гидрохлорида, 25 $мм^3$ раствора сульфата железа (III), 50 $мм^3$ раствора серной кислоты 16 об.%. Перемешивают содержимое пробирки и нагревают на водяной бане при 100 °С в течение 15 мин для перевода акролеина в форму производного – 7-гидроксихинолина. Смесь остужают до комнатной температуры, пропуска-

ют через пористый фильтр (размер пор 0,45 мкм), используя шприц медицинский одноразовый, фильтрат собирают в виалу и анализируют 20 мм^3 экстракта в рабочем режиме хроматографа.

9.4.4. Режим работы хроматографа:

– колонка 4,6 × 150 мм, заполненная сорбентом C_{18};

– элюент: 94 % раствора А, 6 % раствора В;

– градиент элюирования: 6 мин – 6 % раствора В, 13 мин – 8 % раствора В, 17 мин – 10 % раствора В, 22 мин – 20 % раствора В с повышением скорости элюирования с 0,2 до 0,5 см^3/мин, 30 мин – остановка разгонки, время после анализа – 6 мин;

– скорость движения элюента 0,2 см^3/мин;

– температура термостата колонки 27 °С;

– флуориметрический детектор:

  ◦ длина волны возбуждения 243 нм;

  ◦ длина волны эмиссии 501 нм.

Градуировочный коэффициент рассчитывают по формуле:

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

C_i – массовая концентрация акролеина в градуировочном растворе, мг/дм^3;

S_i – среднее значение двух измерений площади пика акролеина в форме его производного (7-гидроксихинолина), полученное при анализе i-го градуировочного раствора, условные единицы (усл.ед.);

n – количество градуировочных смесей ($n = 5$).

Градуировку проводят при смене реактивов или разделительной колонки.

9.4.5. Контроль стабильности градуировочной характеристики. Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят 1 раз в квартал в анализируемой серии измерений. Образцами для контроля стабильности являются градуировочные растворы, выбранные таким образом, чтобы массовая концентрация акролеина соответствовала нижней, верхней границам и середине диапазона построения градуировочной характеристики. Градуировка признается стабильной при выполнении условия:

$$\left|C_m - C\right| \le 0{,}15 \cdot C \text{, где} \qquad (1)$$

C – заданная массовая концентрация акролеина в градуировочном растворе;

C_m – результат измерения массовой концентрации акролеина в образце для градуировки.

При невыполнении условия (1) стабильности градуировочной характеристики эксперимент повторяют с другим градуировочным раствором. При повторном невыполнении условия стабильности градуировочной характеристики выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики.

10. Выполнение измерений

10.1. Отбор проб

Отбирают пробу мочи объемом не менее 20 см^3 в стеклянную тару с плотно закрывающейся крышкой. Срок хранения проб в холодильнике 8 часов.

10.2. Порядок выполнения измерений

Выполняют два параллельных измерения массовой концентрации акролеина в образце мочи. Отобранную пробу мочи вколичестве 10 см^3 центрифугируют со скоростью 2 000 об./мин в течение 5—10 мин. Отбирают 2,0 см^3 верхнего слоя и помещают в мерную стеклянную пробирку, добавляют 0,5 см^3 раствора 3-аминофенола, 0,5 см^3 раствора гидроксиламина гидрохлорида, 25 мм^3 раствора сульфата железа (III), 50 мм^3 раствора серной кислоты объемной долей 16 %. Перемешивают содержимое пробирки и нагревают на водяной бане при 100 °С в течение 15 мин. Смесь остужают до комнатной температуры, пропускают через пористый фильтр (размер пор 0,45 мкм), используя шприц медицинский одноразовый, фильтрат собирают в виалу и анализируют 20 мм^3 экстракта в рабочем режиме хроматографа.

Идентификацию 7-гидроксихинолина проводят путем сравнения спектров и времен удерживания хроматографических пиков в анализируемой пробе и стандартном растворе.

11. Обработка результатов измерений

11.1. Массовую концентрацию акролеина в моче (мг/дм^3) вычисляют по формуле:

$$C_i = S_i \cdot K, \text{ где}$$

C_i – массовая концентрация акролеина в анализируемой пробе, мг/дм^3;

S_i – площадь пика 7-гидроксихинолина на хроматограмме, е.о.п.;

K – градуировочный коэффициент.

11.2. За результат измерения $\overline{C}$ принимают среднее арифметическое значение двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости C_1, C_2 (параллельных определений), для которых выполняется условие:

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

r – предел повторяемости. Значения предела повторяемости приведены в табл. 3.

При невыполнении условия (2) получают дополнительно еще два результата измерений C_3, C_4. За результат измерений принимают среднее арифметическое четырех результатов измерений (C_1, C_2, C_3, C_4), полученных в условиях повторяемости, для которых выполняется условие:

$$\left|C_{max,4} - C_{min,4}\right| \le 0{,}01 \cdot CR_{0,95}(4) \cdot \frac{C_1 + C_2 + C_3 + C_4}{4}, \text{ где} \qquad (3)$$

$C_{max,4}$, $C_{min,4}$ – наибольший и наименьший из 4 полученных результатов измерений;

$CR_{0,95}(4)$ – критический диапазон. Значения критического диапазона приведены в табл. 3.

Таблица 3

Значения пределов повторяемости, воспроизводимости и критического диапазона при доверительной вероятности $P = 0{,}95$

Диапазон измерений, мг/дм^3	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в одной лаборатории в условиях повторяемости), r, %	Критический диапазон (относительное значение допускаемого расхождения между наибольшим и наименьшим из четырех результатов измерений, полученных в одной лаборатории в условиях повторяемости), $CR_{0,95}(4)$, %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, %
От 0,04 до 2 вкл.	11	14	31

12. Оформление результатов измерений

Результат измерений представляют в виде ($\overline{C} \pm \Delta$) мг/дм^3, где

$\overline{C}$ – средний результат измерений, мг/дм^3;

Δ – характеристика погрешности, мг/дм^3 при $P = 0{,}95$, значение Δ рассчитывают по формуле: $\Delta = \frac{\delta \cdot C}{100}$, где δ – относительное значение характеристики погрешности, % (приведено в табл. 1).

13. Контроль качества результатов измерений

Контроль качества результатов измерений в пределах лаборатории организуют и проводят путем проведения оперативного контроля процедуры измерений и контроля стабильности результатов измерений в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-(1-6)—02 и РМГ 76—04.

Периодичность получения результатов контрольных процедур и формы их регистрации приводят в документах лаборатории, устанавливающих порядок и содержание работ по организации методов контроля стабильности результатов измерений в пределах лаборатории.

13.1. Алгоритм оперативного контроля процедуры измерений с использованием метода добавок

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

Результат контрольной процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

$\overline{C}'$ – результат измерений массовой концентрации акролеина в пробе с известной добавкой – среднее арифметическое двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, расхождение между которыми удовлетворяет условию (2);

$\overline{C}$ – результат измерений массовой концентрации акролеина в исходной пробе – среднее арифметическое двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, расхождение между которыми удовлетворяет условию (2);

$C_д$ – массовая концентрация добавки акролеина к исходной пробе.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,C'_{ср}} + \Delta^2_{л,C_{ср}}}, \text{ где}$$

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

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.

Процедуру измерений признают удовлетворительной при выполнении условия:

$$K_к \le K \qquad (4)$$

При невыполнении условия (4) контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (4) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.2. Алгоритм проведения контрольной процедуры при контроле внутрилабораторной прецизионности

Образцами для контроля внутрилабораторной прецизионности являются пробы мочи (рабочие пробы).

При реализации контрольной процедуры получают два результата контрольных измерений (первичного $\overline{C}_1$ и повторного $\overline{C}_2$) массовой концентрации акролеина в условиях внутрилабораторной прецизионности.

Результат контрольной процедуры признают удовлетворительным при выполнении следующего условия:

$$\frac{\left|\overline{C}_1 - \overline{C}_2\right|}{(\overline{C}_1 + \overline{C}_2)/2} \cdot 100\,\% \le R_л, \text{ где} \qquad (5)$$

C_1 и C_2 – результаты измерений массовых концентраций акролеина, полученные в условиях внутрилабораторной прецизионности, т. е. в одной лаборатории в разное время, разными операторами;

$R_л$ – предел внутрилабораторной прецизионности, значения предела внутрилабораторной прецизионности приведены в табл. 4.

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

Таблица 4

Значения предела внутрилабораторной прецизионности при доверительной вероятности $P = 0{,}95$

Диапазон измерений, мг/дм^3	Предел внутрилабораторной прецизионности (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в одной лаборатории в разное время, разными операторами), $R_л$, %
От 0,04 до 2 вкл.	31

13.3. Проверка приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях воспроизводимости

Образцами для проверки приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях воспроизводимости, являются образцы мочи с внесенными в них добавками аттестованного раствора акролеина, подготовленные в соответствии с п. 9.4.2.

Проверку приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях воспроизводимости, проводят по результатам измерений массовых концентраций акролеина из образцов мочи (специально подготовленные образцы мочи с внесенными добавками аттестованного раствора акролеина) с одинаковым содержанием акролеина.

Результаты измерений признают приемлемыми при выполнении условия:

$$\frac{\left|\bar{C}_1 - \bar{C}_2\right|}{(\bar{C}_1 + \bar{C}_2)/2} \cdot 100\,\% \le R\text{, где} \qquad (6)$$

$\bar{C}_1$ и $\bar{C}_2$ – результаты измерений массовых концентраций акролеина (средние арифметические параллельных определений), полученные в условиях воспроизводимости, т. е. в разных лабораториях;

R – предел воспроизводимости, значения предела воспроизводимости приведены в табл. 3.

При выполнении условия (6) результаты измерений, полученные в двух лабораториях, являются совместимыми, и может быть рассчитано общее среднее арифметическое результатов измерений, полученных в двух лабораториях.

При невыполнении условия (6) могут быть проведены процедуры проверки приемлемости согласно раздела 5 ГОСТ Р ИСО 5725-6.

Методические указания разработаны ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (Т. С. Уланова, Н. В. Зайцева, Т. Д. Карнажицкая, Е. О. Заверненкова).

gost.e-ecolog.ru