

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

МУК 4.1.763—4.1.779—99

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 4.1.778—99

Дата введения: 6 сентября 1999 г.

#### 4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

### **Определение содержания цинка, никеля, меди и хрома в женском молоке методом атомной абсорбции**

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 в молоке цинка в диапазоне концентраций 0,50—5,0 мкг/см<sup>3</sup>, никеля – 0,05—5,0 мг/см<sup>3</sup>, меди – 0,10—1,0 мг/см<sup>3</sup>, хрома – 0,05—1,0 мг/см<sup>3</sup>.

#### **ЦИНК (Zn)**

Атом. масса – 65,37

Цинк – голубовато-серебристый металл.  $T_{\text{плавл}} - 419,5 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $T_{\text{кип}} - 906,2 \text{ }^\circ\text{C}$ , плотность – 7,14 г/см<sup>3</sup>. Растворим в кислотах и щелочах. Относится к 3 классу опасности.

#### **НИКЕЛЬ (Ni)**

Атом. масса – 58,71

Никель – серебристый металл.  $T_{\text{плавл}} - 1453 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $T_{\text{кип}} - 2140 \text{ }^\circ\text{C}$ , плотность – 8,9 г/см<sup>3</sup>. Растворим в воде за сутки 0,15 мг%. Растворим в разбавленных кислотах. Относится к 1 классу опасности.

---

Издание официальное

Настоящие методические указания не могут быть полностью или частично воспроизведены, тиражированы и распространены без разрешения Департамента госсанэпиднадзора Минздрава России.

**МЕДЬ (Cu)**

Атом. масса – 63,55

Медь – розовый или красноватый металл.  $T_{\text{плавл}} - 1083\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{\text{кип}} - 2543\text{ }^{\circ}\text{C}$ , плотность –  $8,93\text{ г/см}^3$ . Растворим в  $\text{HNO}_3$  и в горячей концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Порошкообразная медь растворяется в 0,3 %-ном растворе  $\text{HCl}$  и в желудочном соке. Относится к 3 классу опасности.

**ХРОМ (Cr)**

Атом. масса – 51,99

Хром – твердый блестящий металл.  $T_{\text{плавл}} - 1890\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{\text{кип}} - 2480\text{ }^{\circ}\text{C}$ , плотность –  $6,92\text{ г/см}^3$ . Химически малоактивен. При обычных условиях устойчив к кислороду и влаге. Царская водка и  $\text{HNO}_3$  пассивируют хром. Относится к 3 классу опасности.

**Сущность метода**

Методика основана на измерении содержания металлов в биологическом материале (молоке), после соответствующей подготовки проб биоматериала.

Определение элементов методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии 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: цинк – 213,9 нм, никель – 232,0 нм, медь – 324,4 нм, хром – 357,9 нм.

На одно элементопределение 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.

*Средства измерений*

Атомно-абсорбционный спектрофотометр 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 <sup>3</sup> .	ГОСТ 1770—74
Пипетки вместимостью 1, 5, 10 см <sup>3</sup>	ГОСТ 20297—74
Пробирки с пришлифованными пробками П 4—5—14/23	ГОСТ 1770—74
Государственные образцы стандартов (ГСОРМ), ГСОРМ-24 — 1 мкг/см <sup>3</sup>	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
Муфельный шкаф	
Холодильник для хранения проб	
Тигли средние	
Воронки диаметром 2 и 5 см	
Фильтры обеззоленные белая лента	
Песчаная баня	
Плитка типа ПЭК-800/3	ТУ 92—208—74

*Материалы*

Ацетилен в баллоне	ГОСТ 949—73
--------------------	-------------

*Реактивы*

Кислота азотная концентрированная, осч.	ГОСТ 4461—77
---	--------------

**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 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 ( $20 \pm 10$ ) °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 проб молока используется бидистиллированная вода. Основной стандартный раствор готовят из стандартного образца с концентрацией по металлу 1,05—0,95 мг/см<sup>3</sup> путем разведения 0,1 н HNO<sub>3</sub> в мерной колбе вместимостью 100 см<sup>3</sup>. Для приготовления рабочих стандартных растворов в каждую колбу вносят основной стандартный раствор с концентрацией по металлу 5 мкг/см<sup>3</sup> 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 <sup>3</sup> ), см <sup>3</sup>	2	5	10	20
Содержание металла, мкг/см <sup>3</sup>	0,10	0,25	0,50	1,00

### Подготовка прибора к анализу

Атомно-абсорбционный спектрофотометр обеспечивается ацетиленом, сжатым воздухом, набором спектральных ламп, образцами стандартных растворов определяемых металлов и после соответствующей подготовки и прогрева выводится на рабочий режим согласно инструкции. В качестве нулевого раствора используется 0,1 н HNO<sub>3</sub>.

### 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

Отобранные пробы объемом не менее 25 см<sup>3</sup> помещают в химически чистые стаканы, добавляя 0,5 см<sup>3</sup> хлороформа. Пробы хранят в морозильной камере 1—5 дней.

### Выполнение измерений

Измерение концентрации металлов в молоке производится после подготовки пробы к анализу. Отобранные пробы молока не менее 25 см<sup>3</sup> помещают в чашку для выпаривания и выпаривают на песчаной бане до густого остатка. Затем остаток высушивают в течение 1,5 ч при температуре 110 °С в сушильном шкафу и далее в течение 1,5 ч при температуре 250 °С. После чего к пробе добавляют на кончике шпателя сульфат аммония и при температуре 450—500 °С пробу озольют в течение 1,5 ч в муфельной печи. После остывания в эксикаторе к пробе добавляют 0,3—0,5 см<sup>3</sup> концентрированной азотной кислоты и выпаривают до «влажных солей». Затем к охлажденному остатку приливают 5 см<sup>3</sup> 1%-ного HNO<sub>3</sub> и оставляют на 30—40 мин, отфильтровывают и переносят в пробирку с шлифованной пробкой. Результаты измерений концентраций металлов регистрируют по показаниям прибора с цифровой индикацией, откалиброванного согласно концентрациям рабочих стандартных растворов определяемого металла. Точность настройки прибора проверяется введением стандартного образца заданной концентрации через каждые пять проб, в случае необходимости осуществляется перекалибровка. 25 % исследуемых проб выполняются с внутренним контролем.

Расчет концентраций содержания металлов в молоке проводят по формуле:

$$C = \frac{a \cdot V}{V_1}, \text{ где}$$

$a$  — концентрация, определяемая по калибровочному графику, мкг/см<sup>3</sup>,

$V$  — общий объем анализируемой пробы, см<sup>3</sup>,

$V_1$  — объем минерализованной пробы молока, взятого для анализа, см<sup>3</sup>.

### 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 молока 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:

$$|\bar{X}_1 - \bar{X}_2| \leq 0,01D \cdot \bar{X}, \text{ где}$$

$\bar{X}_1$  – результат анализа рабочей пробы, мкг/см<sup>3</sup>;

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

$D$  – 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 получают один аналитик с использованием одного набора мерной посуды, одной партии реактивов и т. д.

Результаты контроля признаются удовлетворительными, если выполняется условие:

$$|X' - X - C| < K_d, \text{ где}$$

$C$  — добавка к пробе в виде раствора с концентрацией мкг/см<sup>3</sup>;  
 $K_d$  — норматив оперативного контроля погрешности, мкг/см<sup>3</sup>.

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

$$K_d = \sqrt{\Delta_x^2 + \Delta_x'^2}, \text{ где}$$

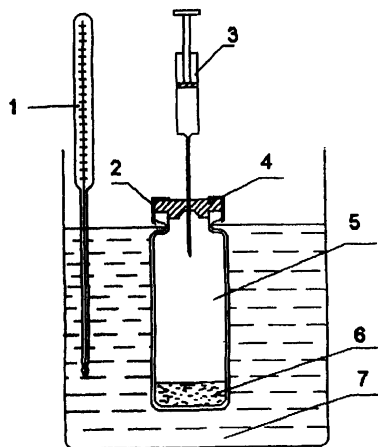
$\Delta_x$  и  $\Delta_x'$  — характеристики погрешностей для исходной пробы и пробы с добавкой, мкг/см<sup>3</sup>.

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

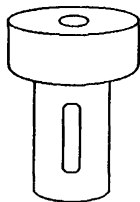
При внутрилабораторном контроле ( $P = 0,90$ ) принимают, что

$$K_d = 0,84 \cdot K_d$$

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

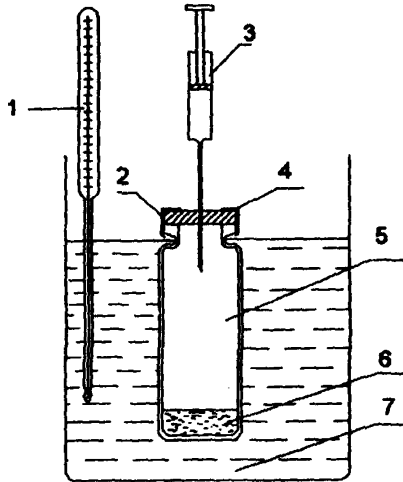


**Рис. 1.** Установка для создания равновесной паровой фазы.  
*1 – термометр; 2 – накидная гайка; 3 – шприц; 4 – резиновая мембрана; 5 – равновесный сосуд; 6 – пробка; 7 – термостатируемая жидкостная баня.*



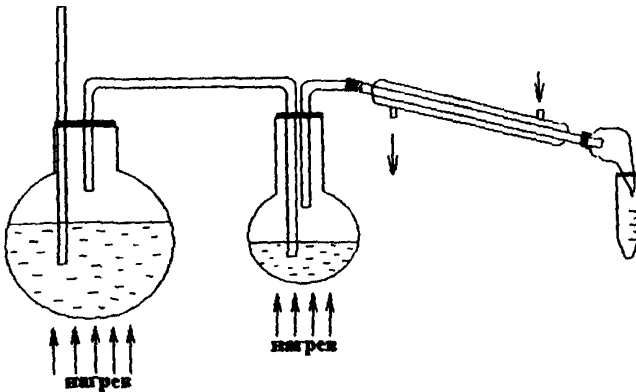
**Рис. 2.** Стакан с навинчивающейся крышкой для фиксации пробки на флаконе.

## 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