

4.1. Методы контроля. Химические факторы

**МЕТОДИКА ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ СЕЛЕНА В
ПРОБАХ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА АТОМНО-АБСОРБЦИОННЫМ МЕТОДОМ С
ЭЛЕКТРОТЕРМИЧЕСКОЙ АТОМИЗАЦИЕЙ**

**Методические указания по методам контроля
МУК 4.1.031-15**

Издание официальное

Федеральное медико-биологическое агентство
Москва
2015

ПРЕДИСЛОВИЕ

1. Методические указания по методам контроля «Методика измерений массовой концентрации селена в пробах крови человека атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией» разработаны Федеральным государственным бюджетным учреждением науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России).

Директор института: д.м.н. Бонитенко Е.Ю.

Заместитель директора по НИР: д.м.н. Иванов М.Б.

Исполнители: к.х.н. Иваненко А.А., к.х.н. Иваненко Н.Б., к.х.н. Соловьев Н.Д., к.х.н. Наволоцкий Д.В.

2. Настоящие методические указания по методам контроля аттестованы в соответствии с ГОСТ Р 8.563-2009 Федеральным государственным унитарным предприятием «Уральский научно-исследовательский институт метрологии» (ФГУП «УНИИМ»), свидетельство об аттестации методики (метода) измерений № 222.0024/01.00258/2015 от 26.02.2015 г.

3. Рекомендованы к утверждению подкомиссией по специальному нормированию Федерального медико-биологического агентства (протокол от 12 мая 2015 г. № 4/2015).

4. Утверждены и введены в действие заместителем руководителя Федерального медико-биологического агентства, Главным государственным санитарным врачом по обслуживаемым организациям и обслуживаемым территориям В.В. Романовым 12 мая 2015 г.

**Федеральный закон Российской Федерации от 30 марта 1999 г. № 52-ФЗ
«О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения»**

«Санитарно-эпидемиологические требования – обязательные требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания, условий деятельности юридических лиц и граждан, в том числе индивидуальных предпринимателей, используемых ими территорий, зданий, строений, сооружений, помещений, оборудования, транспортных средств, несоблюдение которых создает угрозу жизни или здоровью человека, угрозу возникновения и распространения заболеваний и которые устанавливаются государственными санитарно-эпидемиологическими правилами и гигиеническими нормативами (далее - санитарные правила), а в отношении безопасности продукции и связанных с требованиями к продукции процессов ее производства, хранения, перевозки, реализации, эксплуатации, применения (использования) и утилизации, которые устанавливаются документами, принятыми в соответствии с международными договорами Российской Федерации, и техническими регламентами» (статья 1).

«Соблюдение санитарных правил является обязательным для граждан, индивидуальных предпринимателей и юридических лиц» (статья 39).

«За нарушение санитарного законодательства устанавливается дисциплинарная, административная и уголовная ответственность в соответствии с законодательством Российской Федерации» (статья 55).

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	2
ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ	6
НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	7
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	9
ОСНОВНЫЕ НОРМАТИВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ	10
1. Требования к показателям точности измерений	10
2. Метод измерений	10
3. Средства измерений, государственные стандартные образцы, вспомогательные устройства, реактивы и материалы	11
3.1. Средства измерений	11
3.2. Государственные стандартные образцы	11
3.3. Вспомогательные устройства и материалы	11
3.4. Реактивы	12
4. Требования безопасности, охраны окружающей среды	13
5. Условия выполнения измерений	13
6. Требования к квалификации операторов	13
7. Подготовка к выполнению измерений	13
7.1. Подготовка химической посуды для выполнения измерений	13
7.2. Приготовление растворов	14
7.2.1. Приготовление вспомогательных растворов и растворов модификаторов	14
7.2.2. Приготовление градуировочного раствора ионов селена с массовой концентрацией 1 мг/дм ³	14
7.2.3. Приготовление градуировочных растворов	15
7.3. Подготовка спектрометра «МГА-915» к работе	15
7.4. Подготовка атомизатора к проведению измерений	15
7.5. Установление градуировочной характеристики	16
7.6. Контроль стабильности градуировочных характеристик	17
7.7. Контроль бидистиллированной (деионизованной) воды	18
7.8. Отбор, транспортировка и хранение проб крови	18

7.9. Подготовка проб к выполнению измерений	19
8. Порядок выполнения измерений	19
9. Обработка результатов измерений	20
10. Оформление результатов измерений	21
11. Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории	22
ПРИЛОЖЕНИЕ А (обязательное)	25

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель руководителя Федерального
медико-биологического агентства,
Главный государственный санитарный врач по
обслуживаемым организациям и
обслуживаемым территориям



В.В. Романов

« 12 » мая 2015 г.

МУК 4.1.031-15

Дата введения – с момента утверждения

4.1. Методы контроля. Химические факторы

**МЕТОДИКА ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ СЕЛЕНА В
ПРОБАХ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА АТОМНО-АБСОРБЦИОННЫМ МЕТОДОМ С
ЭЛЕКТРОТЕРМИЧЕСКОЙ АТОМИЗАЦИЕЙ**

Методические указания по методам контроля

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящий документ устанавливает методику измерений (в дальнейшем МИ) массовой концентрации селена в пробах крови человека атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией на атомно-абсорбционном спектрометре «МГА-915» и предназначен для применения в клиничко-диагностических, экологических, санитарно-гигиенических, судебно-медицинских и научных организациях. Методические указания разработаны с целью обеспечения контроля за содержанием селена в пробах крови у населения, проживающего в районах с повышенным уровнем загрязнения окружающей среды.

Диапазон измерений массовой концентрации селена разбавленных проб крови человека составляет от 1,0 до 50,0 мкг/дм³.

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящих методических указаниях использованы ссылки на нормативные документы.

Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации № 40 от 27.01.2006 «Об организации проведения химико-токсикологических исследований при аналитической диагностике наличия в организме человека алкоголя, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ».

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная, лабораторная, стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия.

ГОСТ 29169-91 Посуда лабораторная, стеклянная. Пипетки с одной отметкой.

ГОСТ 29227-91 Пипетки градуированные.

ГОСТ 10157-79 Аргон газообразный и жидкий. Технические условия.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ Р 52501-2005 Вода для лабораторного анализа. Технические условия.

ГОСТ 4204-77 Кислота серная. Технические условия.

ГОСТ 11125-84 Кислота азотная особой чистоты. Технические условия.

ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества.

ГОСТ Р 12.1.019-2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.

ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования.

ГОСТ 12.4.009-83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание.

ГОСТ 12.1.005-88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны.

ГОСТ 12.0.004-90 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда.

ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике.

ГОСТ Р 8.563-2009 Государственная система обеспечения единства измерений. Методики (методы) измерений.

ГОСТ Р 1.5-2004 Стандартизации в Российской Федерации. Стандарты национальные Российской Федерации. Правила построения, изложения, оформления и обозначения.

ГОСТ Р 53228-2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания.

ГОСТ ИСО /МЭК 17025-2009 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий.

ТУ 4434-915-20506233-98 Спектрометр атомно-абсорбционный МГА-915.

ТУ 9452-001-33189998 Дозаторы пипеточные ДПВ-1, ДПВ-8, ДПФ-1.

МИ 2881-2004 Государственная система обеспечения единства измерений. Методики количественного химического анализа. Процедуры проверки приемлемости результатов анализа.

РМГ 76-2004 Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа.

Примечание – При пользовании настоящих методик целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и других документов в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, или по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный документ заменён (изменён), то при пользовании настоящей методики следует руководствоваться заменяющим (изменённым) документом. Если ссылочный документ отменён без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

- МУК – методические указания
- МИ – методика измерений
- ААС – атомно-абсорбционная спектрометрия
- ГХ – градуировочная характеристика
- s_r – относительное стандартное отклонение
- σ_r – показатель повторяемости (относительное среднее квадратическое отклонение повторяемости)
- σ_R – показатель воспроизводимости (относительное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости)
- $\pm\delta$ – показатель точности (границы относительной погрешности при вероятности $P = 0,95$)
- $\pm\delta_c$ – показатель правильности (границы относительной систематической погрешности при доверительной вероятности $P = 0,95$)
- r – предел повторяемости (относительное значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений)
- R – предел воспроизводимости (относительное значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в условиях воспроизводимости)
- СИ – средство измерений
- ГСО – государственный стандартный образец

ОСНОВНЫЕ НОРМАТИВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1. Требования к показателям точности измерений

Методика измерений обеспечивает получение результатов измерений с погрешностью, не превышающей значений, приведённых в таблице 1.

Таблица 1 – Диапазон измерений, значения показателей повторяемости, воспроизводимости и точности

Диапазон измерений, массовая концентрация, мкг/дм ³	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r , %	Показатель воспроизводимости* (относительное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R , %	Показатель правильности (границы относительной систематической погрешности при доверительной вероятности $P=0,95$), $\pm\delta_c$, %	Показатель точности** (границы относительной погрешности при доверительной вероятности $P=0,95$), $\pm\delta$, %
от 1,0 до 15,0 вкл.	8	17	11	35
св. 15,0 до 50,0 вкл.	7	12	10	25
Примечания 1* – Оценен по результатам межлабораторных исследований ($L=2$) 2** – Соответствует расширенной неопределенности U_{omi} (в относительных единицах) при коэффициенте охвата $k = 2$				

Значения показателей точности методик используют при:

- оформлению результатов измерений, выдаваемых лабораторией;
- проверке квалификации лабораторий ;
- оценке возможности использования результатов измерений при реализации методики измерений в конкретной лаборатории.

2. Метод измерений

Метод измерений основан на резонансном поглощении света свободными атомами металлов, возникающем при пропускании света через слой атомного пара в электротермическом атомизаторе атомно-абсорбционного анализатора «МГА-915». В атомизаторе применяется графитовая печь. Массовая концентрация селена рассчитывается по предварительно установленной градуировочной характеристике с учётом полученного аналитического сигнала, объёма вводимого в атомизатор водного раствора крови и коэффициента разбавления исходной пробы.

3. Средства измерений, государственные стандартные образцы, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

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

3.1. Средства измерений

№№ п/п	Наименование средства измерений (СИ)	Нормативный документ	Основные характеристики
1.	Спектрометр атомно-абсорбционный «МГА-915» с программным обеспечением и сетевым кабелем Рабочий спектральный диапазон 190-600 нм; спектральное разрешение 2 нм; Зеемановский корректор фона	ТУ 4434-915-20506233-98 № по Госреестру 17309-03	Указаны в руководстве по эксплуатации или паспорте средства измерений
2.	Колбы мерные: 2-500-2 2-100-2 2-50-2 2-10-2	ГОСТ 1770-74	Погрешность: $\pm 0,50 \text{ см}^3$ $\pm 0,20 \text{ см}^3$ $\pm 0,12 \text{ см}^3$ $\pm 0,05 \text{ см}^3$
3.	Пипетки мерные с одной отметкой: 2-2-5 2-2-10	ГОСТ 29169-91	Погрешность: $\pm 0,02 \text{ см}^3$ $\pm 0,04 \text{ см}^3$
4.	Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1, 2, 5, 10 см^3	ГОСТ 29227-91	Погрешность: $\pm 1 \%$ номинального значения
5.	Одноканальная пипетка переменного объема «Классик» (дозатор) вместимостью 5-50 мм^3	ТУ 9452-001-33189998-95	Погрешность: $\pm 5 \%$
6.	Одноканальная пипетка переменного объема «Колор» (дозатор) вместимостью 100-1000 мм^3	ТУ 9452-002-33189998-2006	Погрешность $\pm 1,5 \%$
7.	Весы лабораторные общего назначения	ГОСТ Р 53228-2008	Класс точности специальный
8.	Цилиндры вместимостью 10 и 500 см^3	ГОСТ 1770-74	Класс точности 2

3.2. Государственные стандартные образцы

ГСО 7340-96 состава водного раствора ионов селена, массовая концентрация ионов селена 1 г/дм^3 , погрешность аттестованного значения $\pm 1 \%$.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Графитовая кювета с пиропокрытием фирмы «Perkin-Elmer» с интегрированной платформой (расходный материал)	Тип HGM tm
Графитовая кювета с пиропокрытием фирмы «Perkin-Elmer» (без платформы)	Тип HGM tm
Стаканчики полистирольные (одноразового использования), объемом 2 см^3	Для автосемплера МГА-915

Система для получения ультрачистой воды MilliQ Advantage A10 (Millipore, Франция)	Деионизатор
Одноразовые вакуумные системы для взятия крови	Антикоагулянт гепарин-литий
Флаконы из дрота объемом (пенициллиновые)	Емкость 12 см ³
Сумка-холодильник	Поддерживает температуру ≤ 4°C не менее 4 часов
Холодильный шкаф	Температура холодильной камеры 0-2°C, температура морозильной камеры -18°C

3.4. Реактивы

Аргон газообразный, высшего сорта; высокой чистоты	ГОСТ 10157-79 ТУ 6-21-1294
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709-72
Вода для лабораторного анализа, степень чистоты 2 (бидистиллированная или деионизированная)	ГОСТ Р 52501-2005
Кислота серная концентрированная, х.ч.	ГОСТ 4204-77
Кислота азотная концентрированная, ос.ч.	ГОСТ 11125-84
Модификатор – гексагидрат платинохлороводородной кислоты	производство фирмы Fluka
Модификатор – нитрат палладия, массовая концентрация 10 г/дм ³	производство фирмы Merck

Примечания

1 Бидистиллированную воду получают путем перегонки дистиллированной воды в бидистилляторе или в кварцевом (стеклянном) приборе. Деионизированную и бидистиллированную воду контролируют согласно п. 7.7 методических указаний.

2 Допускается использование других средств измерений утвержденных типов и вспомогательного оборудования с метрологическими и техническими характеристиками не хуже указанных. Допускается использование других ГСО с метрологическими характеристиками не хуже указанных. Допускается использование реактивов аналогичной или более высокой квалификации, изготовленных по другой нормативной документации, в том числе импортных.

4. Требования безопасности, охраны окружающей среды

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76, требования электробезопасности при работе с электроустановками в соответствии с ГОСТ Р 12.1.019-2009, а также требования, изложенные в технической документации на атомно-абсорбционный спектрометр МГА-915.

Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности (ГОСТ 12.1.004-91) и иметь средства пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009-83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать допустимых значений (ГОСТ 12.1.005-88). Организация обучения безопасности труда работающих должна соответствовать ГОСТ 12.0.004-90.

Утилизацию растворов и проб после выполнения измерений проводят в соответствии с нормативным документом по утилизации растворов и проб, разработанным в организации.

5. Условия выполнения измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура воздуха (20 ± 5) °С;
- атмосферное давление 84,0 – 106,7 кПа (630-800 мм рт. ст.);
- влажность воздуха не более 80 % при температуре 25 °С;
- напряжение в сети (220 ± 10) В;
- частота переменного тока (50 ± 1) Гц.

6. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускают специалиста, имеющего высшее или среднее специальное химическое образование или опыт работы в химической лаборатории, прошедшего соответствующий инструктаж, освоившего метод в процессе тренировки и получившего удовлетворительные результаты при выполнении процедур оперативного контроля погрешности.

7. Подготовка к выполнению измерений

7.1. Подготовка химической посуды для выполнения измерений

При выполнении измерений необходимо тщательно соблюдать чистоту химической посуды, руководствуясь следующими правилами.

Для мытья химической посуды следует использовать концентрированную серную кислоту или концентрированную азотную кислоту. Категорически запрещается использовать для мытья соду, щелочи, все виды синтетических моющих средств, хромовую смесь.

Посуду предварительно отмывают водопроводной водой, затем в нее наливают приблизительно на 1/2 объема концентрированную серную кислоту и тщательно обмывают ею всю внутреннюю поверхность, затем выливают в специальный сосуд. Пипетки при помощи груши несколько раз заполняют кислотой выше метки. После промывания посуды дистиллированной водой (не менее 5 раз) ее окончательно споласкивают бидистиллированной (деионизованной) водой (2-3 раза).

Для каждого раствора необходимо использовать отдельную пипетку. Раствор из колбы наливают в стаканчик и из него набирают в пипетку. Запрещается погружать пипетку в весь объем раствора во избежание загрязнения.

Рекомендуется иметь отдельный набор посуды, который используется только для проведения анализов в соответствии с каждой из методик измерений, изложенных в данных методических указаниях.

7.2. Приготовление растворов

Растворы готовят на деионизованной или бидистиллированной воде.

7.2.1. Приготовление вспомогательных растворов и растворов модификаторов

7.2.1.1. Приготовление раствора азотной кислоты с объемной долей 2 %

В мерную колбу емкостью 500 см³ помещают 300 – 400 см³ бидистиллированной (деионизованной) воды, осторожно, при перемешивании вливают 10 см³ концентрированной азотной кислоты, отмеренной цилиндром, доводят до 500 см³ бидистиллированной (деионизованной) водой и перемешивают. Раствор устойчив при хранении в закрытом сосуде из полиэтилена, полипропилена или фторопласта длительное время.

7.2.1.2. Приготовление раствора гексагидрата платинохлороводородной кислоты с массовой долей 0,1 %

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,1 г гексагидрата платинохлороводородной кислоты, доводят до метки бидистиллированной (деионизованной) водой и тщательно перемешивают. Раствор устойчив при хранении в закрытом сосуде из полиэтилена, полипропилена или фторопласта 12 месяцев.

7.2.1.3. Приготовление раствора модификатора нитрата палладия с массовой концентрацией 1 г/дм³

В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают при помощи пипетки 5 см³ раствора модификатора с массовой концентрацией 10 г/дм³, доводят до метки бидистиллированной (деионизованной) водой и тщательно перемешивают. Раствор устойчив при хранении в закрытом сосуде из полиэтилена, полипропилена или фторопласта 12 месяцев.

7.2.2. Приготовление градуировочного раствора ионов селена с массовой концентрацией 1 мг/дм³

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают при помощи дозатора 1 см³ ГСО состава водного раствора ионов селена с массовой концентрацией 0,1 г/дм³,

доводят до метки 2 % раствором азотной кислоты и перемешивают. Раствор устойчив при хранении в полиэтиленовой посуде в течение 1 месяца.

7.2.3. Приготовление градуировочных растворов

Рабочие градуировочные растворы готовят в мерных колбах последовательным разбавлением. Для разбавления применяют азотную кислоту с объемной долей 2%.

При приготовлении рабочих градуировочных растворов отбирают указанный объем исходного раствора (таблица 2) в мерные колбы указанной вместимости, доводят до метки азотной кислотой с объемной долей 2% и тщательно перемешивают. Растворы используют свежеприготовленными.

Таблица 2 – Приготовление градуировочных растворов

Массовая концентрация ионов селена в исходном растворе, мкг/дм ³	Объем исходного раствора, см ³	Вместимость колбы, см ³	Массовая концентрация ионов селена в градуировочном растворе, мкг/дм ³
1000	5	100	50
1000	4	100	40
1000	3	100	30
1000	2	100	20
1000	1	100	10
20	10	50	4

7.3. Подготовка спектрометра «МГА-915» к работе

Подготовку спектрометра к работе и установку графитовой печи проводят в соответствии с Руководством по эксплуатации.

7.4. Подготовка атомизатора к проведению измерений

Для определения селена следует применять графитовые кюветы с интегрированной платформой. Перед определением селена проводят модификацию поверхности платформы графитовой кюветы гексагидратом платинохлороводородной кислотой. Для этого в графитовый атомизатор вводится 20 мкл 0,1 % раствора гексагидрата платинохлороводородной кислоты. Разложение гексагидрата платинохлороводородной кислоты на поверхности платформы графитовой кюветы проводится в соответствии с температурно-временной программой нагрева, представленной в таблице 3. Процедуру перманентной модификации проводят последовательно 6 раз. Повторное платинирование кюветы проводится через каждые 50 циклов атомизации.

Таблица 3 – Температурно-временные режимы модификации поверхности платформы графитовой кюветы

Режим	Параметры	
	Время, с	Температура, °С
Сушка	80	100
Пиролиз 1	20	600
Пиролиз 2	2	1400
Атомизация	2	2400
Очистка	2	2500
Пауза	100	—

7.5. Установление градуировочной характеристики

Для установления градуировочной характеристики (ГХ) в графитовую печь вводят дозатором последовательно градуировочные растворы ионов селена и регистрируют соответствующие показания спектрометра (интегральные аналитические сигналы – A , усл. ед.). Рекомендованные концентрации градуировочных растворов, объем аликвотных порций и соответствующие им абсолютные содержания селена представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Рекомендованные концентрации и аликвотные порции градуировочных растворов

Массовая концентрация градуировочного раствора, мкг/дм ³	Объем аликвотной порции градуировочного раствора, мм ³	Абсолютное содержание никеля (масса селена в аликвоте градуировочного раствора), m_i , пг
4	10	40
10	10	100
20	10	200
30	10	300
40	10	400
50	10	500

Для регистрации аналитических сигналов применяют температурно-временные режимы согласно указанным в таблице 5. Программное обеспечение прибора рассчитывает средний аналитический сигнал и относительное стандартное отклонение аналитических сигналов.

Градуировочная характеристика выражается прямолинейной зависимостью среднего аналитического сигнала (A , усл.ед.) от массы компонента (m_i , пг) в

дозированной порции градуировочного раствора. В компьютерной программе прибора задана по умолчанию «нулевая» точка ГХ, соответствующая нулю аналитического сигнала и массы селена. Если аналитический сигнал селена для бидистиллированной (деионизованной) воды отличается от нуля, то в качестве «нулевой» точки ГХ в программу вносят данное значение, которое принимается за ноль.

Градуировочный график должен быть линейным. Проверку линейности рекомендуется проводить по действующим нормативным документам, регламентирующим установление градуировочных характеристик средств измерений.

7.6. Контроль стабильности градуировочных характеристик

Контроль стабильности градуировочных характеристик осуществляют перед анализом серии проб и через каждые 15-20 анализируемых проб. Средствами контроля являются образцы для градуировки (таблица 4).

Градуировочную характеристику считают стабильной при выполнении для каждого образца для градуировки следующего условия (1):

$$| m_k - m_{cp} | \leq K_{cp}, \quad (1)$$

где m_k – результат контрольного измерения содержания (массы) селена в образце для градуировки, пг;

m_{cp} – аттестованное значение содержания (массы) селена в образце для градуировки, пг;

K_{cp} – норматив контроля стабильности градуировочной характеристики, пг:

$$K_{cp} = 0,01 \cdot \delta^{sp} \cdot m_{cp}, \quad (2)$$

где δ^{sp} – относительная погрешность построения градуировочного графика, равная 15 %.

Если условие стабильности градуировочной характеристики не выполняется только для одного образца для градуировки, необходимо выполнить повторное измерение этого образца для исключения результата, содержащего грубый промах.

Если градуировочная характеристика нестабильна, выясняют причины и повторяют контроль с использованием других образцов для градуировки, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики строят новый градуировочный график.

Рекомендуется повторить анализ проб, проанализированных после предыдущего контроля стабильности.

При смене реактивов, длительном перерыве работы прибора осуществляется повторное установление градуировочных характеристик.

7.7. Контроль бидистиллированной (деионизованной) воды

Бидистиллированную (деионизованную) воду контролируют ежедневно перед началом работы, а также периодически. Периодичность контроля устанавливает лаборатория с учётом предыдущих результатов контроля. Рекомендуется проводить контроль проб воды из деионизатора (бидистиллятора) не реже, чем после измерения каждых 15-20 проб крови.

В графитовую печь последовательно вводят 10 мм³ бидистиллированной (деионизованной) воды и 10 мм³ градуировочного раствора с массовой концентрацией селена 4 мкг/дм³. Получают аналитические сигналы.

Результаты контроля признают удовлетворительными, если отношение аналитического сигнала селена для бидистиллированной (деионизованной) воды к аналитическому сигналу для указанного градуировочного раствора не превышает 0,15. В противном случае необходимо найти и устранить причины загрязнения бидистиллированной (деионизованной) воды.

7.8. Отбор, транспортировка и хранение проб крови

Отбор, транспортировку и хранение проб крови проводят в соответствии с приложением № 2 к приказу Министерства здравоохранения и социального развития РФ № 40 от 27.01.2006 г.

Кровь для проведения химико-токсикологических исследований отбирается из поверхностной вены одним из следующих способов.

– Самотеком в сухой флакон с раствором гепарина (3 - 5 капель на каждые 10 см³ крови). Отбирается 15 см³ крови в два флакона объемами 10 и 5 см³. Флаконы закрываются стандартной резиновой пробкой, которая фиксируется алюминиевым колпачком. Содержимое флаконов сразу же перемешивается. Флаконы опечатываются и направляются для проведения химико-токсикологических исследований.

– С использованием вакуумных пробирок (одноразовых устройств для ускоренного взятия крови с содержанием гепарина и иглами с двух концов) один конец вводится в вену, другим концом прокалывается резиновая мембрана пробирки. Отбирается 15 см³ крови в две вакуумные пробирки вместимостью 5 см³ и 10 см³ (контрольный и анализируемый образцы), пробирки опечатываются.

Кровь с сопроводительной документацией направляется в химико-токсикологическую лабораторию в укупоренных и опечатанных флаконах, вакуумных пробирках в специальном контейнере в сумке-холодильнике на транспорте медицинской организации в сопровождении медицинского работника, ответственного за доставку биологического материала.

Анализируемые образцы крови хранятся в течение первых двух суток при температуре 0 – 2 °С, далее – при температуре не менее минус 18 °С в холодильных шкафах в течение двух месяцев.

7.9. Подготовка проб к выполнению измерений

Анализируемые пробы крови перед выполнением измерений следует разбавить в 10 раз деионизированной (бидистиллированной) водой. Разбавление проводят одним из ниже указанных способов:

– в мерные колбы вместимостью 10 см³ помещают при помощи дозатора 1 см³ пробы, доводят до метки деионизированной (бидистиллированной) водой и тщательно перемешивают;

– в пластиковый стаканчик вместимостью 2 см³ помещают при помощи дозатора 90 мм³ деионизированной (бидистиллированной) воды, добавляют дозатором 10 мм³ пробы крови, тщательно перемешивают.

Разбавление проб проводят непосредственно перед началом анализа.

8. Порядок выполнения измерений

Определение содержания селена необходимо проводить с использованием химического модификатора.

В графитовую печь, подготовленную в соответствии с п. 7.4, вводят 10 мм³ разбавленной пробы крови (в соответствии с п. 7.9), далее в атомизатор вводят 5 мм³ раствора модификатора нитрата палладия с концентрацией 1 г/дм³. Далее пробы анализируют в соответствии с температурно-временными режимами, представленными в таблице 5.

Таблица 5 – Температурно-временные режимы анализа разбавленных проб крови при определении таллия и селена (графитовая кювета с интегрированной платформой)

Параметр	t, с	T, °С
Сушка	60	90
Пиролиз	16	700
Атомизация	2,0	2700
Очистка	2,0	2800
Пауза	90	-

Информация о вводимом объеме разбавленной пробы и коэффициенте разбавления пробы заносится в компьютер.

На дисплее компьютера после каждого ввода пробы отображается аналитический сигнал (*A*, усл.ед.), масса определяемого компонента (*m*, пг) и массовая концентрация определяемого компонента (*X*, мкг/дм³). Для каждой пробы

измерение повторяют дважды. Полученные данные автоматически записываются в «Протокол» программного обеспечения прибора.

9. Обработка результатов измерений

Результат единичного анализа – массовую концентрацию селена в разбавленной пробе крови (X_i , мкг/дм³) находят по формуле (3):

$$X_i = \frac{m_i}{V}, \quad (3)$$

где m_i – найденная по градуировочной характеристике масса определяемого компонента в разбавленной пробе крови, пг;

V – объем вводимой в атомизатор разбавленной пробы крови, мм³.

Примечание – Для расчета массовой концентрации селена в цельной крови следует умножить результат единичного анализа в разбавленной пробе крови на коэффициент разбавления $Q=10$.

За результат измерений массовой концентрации определяемого компонента в разбавленной пробе крови (\bar{X} , мкг/дм³) принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений X_1 и X_2 , полученных в условиях повторяемости (4):

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2}{2} \quad (4)$$

для которых выполняется следующее условие (5):

$$|X_1 - X_2| \leq 0,01 \cdot r \cdot \bar{X}, \quad (5)$$

где r – относительное значение предела повторяемости для двух результатов параллельных определений, % (таблица 6).

При невыполнении условия (5) необходимо дополнительно получить еще два результата параллельных определений. Если при этом расхождение ($X_{\max} - X_{\min}$) результатов четырех параллельных определений равно или меньше критического диапазона $CR_{0,95}$ (4), то в качестве окончательного результата принимают среднее арифметическое значение результатов четырех параллельных определений. Значение критического диапазона для четырех результатов параллельных определений рассчитано по формуле (6) и в относительных единицах приведено в таблице 6:

$$CR_{0,95} = Q(0,95; 4) \cdot \sigma_r, \quad (6)$$

где $Q(0,95;4)$ – коэффициент, зависящий от числа результатов единичных определений, полученных в условиях повторяемости и доверительной вероятности 0,95.

$$Q(0,95;4)=3,63;$$

σ_r – относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости, % (таблица 1).

Если расхождение ($X_{max}-X_{min}$) больше $CR_{0,95}$ (5), в качестве окончательного результата измерений может быть принята медиана четырех результатов параллельных определений. Кроме того, целесообразно выяснить причины появления неприемлемых результатов параллельных определений и устранить их.

Таблица 6 – Диапазон измерений, значения пределов повторяемости, воспроизводимости и критического диапазона при доверительной вероятности $P = 0,95$

Диапазон измерений, мкг/дм ³	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения для двух результатов параллельных определений), r , %	Критический диапазон (относительное значение допускаемого расхождения для четырех результатов параллельных определений), $CR_{0,95}$ (4), %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения для двух результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости), R , %
от 1,0 до 15,0 вкл.	22	29	47
св. 15,0 до 50,0 вкл.	19	25	33

Расхождение между результатами измерений, полученными в двух лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости. При выполнении этого условия приемлемы оба результата измерений и в качестве окончательного может быть использовано их общее среднее значение. Значения предела воспроизводимости в относительных единицах приведены в таблице 6.

При превышении предела воспроизводимости могут быть использованы методы оценки приемлемости результатов измерений согласно раздела 5 ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 и МИ 2881-2004.

10. Оформление результатов измерений

Результаты измерений регистрируют в протоколе измерений, который оформляют в соответствии с ГОСТ ИСО /МЭК 17025-2009.

Результаты измерений массовой концентрации определяемого компонента \bar{X} , мкг/дм³, представляют в виде (при подтвержденном в лаборатории соответствии аналитической процедуры требованиям настоящего документа):

$$\bar{X} \pm \Delta, \quad \text{либо} \quad \bar{X} \pm U, \quad P=0,95 \quad (7)$$

где \bar{X} – результат измерений массовой концентрации селена, вычисленный в соответствии с п 8, 9, мкг/дм³;

Δ – абсолютная погрешность измерений массовой концентрации селена, мкг/дм³, вычисляемая по формуле (8):

$$\Delta = 0,01 \cdot \delta \cdot \bar{X}, \quad (8)$$

где δ – относительная погрешность измерений массовой концентрации селена (таблица 1), %.

U – расширенная неопределенность при $k = 2$, мкг/дм³, вычисляемая по формуле (9):

$$U = 0,01 \cdot U_{\text{отн.}} \cdot \bar{X}, \quad (9)$$

где $U_{\text{отн.}}$ – расширенная неопределенность (в относительных единицах) при $k = 2$ (таблица 1), %.

Допустимо результат измерений представлять в виде :

$$\bar{X} \pm \Delta_l, \text{ мкг/дм}^3, \quad (10)$$

при условии $\Delta_l < \Delta$, где Δ_l – значение показателя точности измерений (доверительные границы абсолютной погрешности измерений), установленное при реализации настоящей методики в лаборатории и обеспечиваемое контролем стабильности результатов измерений.

$$\bar{X} \pm U_l, \text{ мкг/дм}^3, \quad P=0,95 \quad (11)$$

при условии $U_l < U$, где U_l – значение расширенной неопределенности, установленное при реализации настоящей методики в лаборатории и обеспечиваемое контролем стабильности результатов измерений в лаборатории.

Примечания

1 При необходимости (в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002, раздел 5.2) для результата измерений \bar{X} указывается количество параллельных определений и способ установления результата измерений.

2 Числовые значения результата измерений оканчиваются цифрой того же разряда, что и значение показателя точности методики измерений (абсолютной погрешности измерений массовой концентрации определяемого компонента).

11. Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории предусматривает:

- оперативный контроль процедуры измерений;
- контроль стабильности результатов измерений (на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения повторяемости, среднеквадратического отклонения внутрилабораторной прецизионности, систематической погрешности).

11.1. Оперативный контроль процедуры измерений на основе контроля внутрилабораторной прецизионности и погрешности

Контроль внутрилабораторной прецизионности осуществляют путем сравнения результатов измерений массовой концентрации определяемого компонента в пробе, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности. Расхождение между результатами измерений не должно превышать предела внутрилабораторной прецизионности (R_l), выраженного в единицах измеряемых содержаний:

$$|\bar{X}_1 - \bar{X}_2| \leq 0,01 \cdot R_l \cdot \bar{\bar{X}}, \quad (12)$$

где \bar{X}_1, \bar{X}_2 – результаты измерений массовой концентрации определяемого компонента, полученные в условиях внутрилабораторной прецизионности, мкг/дм³; $\bar{\bar{X}}$ – среднее арифметическое значение результатов измерений массовой концентрации определяемого компонента, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности, мкг/дм³;

R_l – относительное значение предела внутрилабораторной прецизионности, %.

Значение R_l может быть приведено в Протоколе установленных показателей качества результатов анализа при реализации методики измерений в лаборатории.

При невыполнении условия (12) контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (12) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам и устраняют их.

11.2. Контроль погрешности с использованием метода добавок

Контроль исполнителем процедуры выполнения измерений проводят путем сравнения результата отдельно взятой контрольной процедуры K_k с нормативом контроля K .

Результат контрольной процедуры K_k рассчитывают по формуле (13):

$$K_k = \bar{X}' - \bar{X} - C, \quad (13)$$

где \bar{X}' – результат контрольного измерения массовой концентрации определяемого компонента в рабочей пробе (разбавленной пробе крови) с известной добавкой, мкг/дм³;

\bar{X} – результат контрольного измерения массовой концентрации определяемого компонента в рабочей пробе (разбавленной пробе крови), мкг/дм³;

C – величина добавки, мкг/дм³.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле (14);

$$K = \sqrt{\Delta_{l,\bar{X}'}^2 + \Delta_{l,\bar{X}}^2}, \quad (14)$$

где $\Delta_{l,\bar{X}'}, \Delta_{l,\bar{X}}$ – значения характеристик погрешности результатов измерений, установленные в лаборатории при реализации методики, соответствующие массовой

концентрации определяемого компонента в рабочей пробе с добавкой и в рабочей пробе соответственно, мкг/дм³:

$$\Delta_{\bar{X}'} = 0,01 \cdot \delta_{\bar{X}'} \bar{X}' , \quad (15)$$

$$\Delta_{\bar{X}} = 0,01 \cdot \delta_{\bar{X}} \bar{X} . \quad (16)$$

$\delta_{\bar{X}'}$, $\delta_{\bar{X}}$ - значения характеристик погрешности результатов измерений, установленные в лаборатории при реализации методики, соответствующие массовой концентрации определяемого компонента в рабочей пробе с добавкой и в рабочей пробе соответственно, %.

Качество контрольной процедуры признают удовлетворительным, при выполнении условия:

$$|K_k| \leq K \quad (17)$$

При невыполнении условия (17) эксперимент повторяют. При повторном невыполнении условия (17) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам и устраняют их.

Периодичность контроля исполнителем процедуры выполнения измерений, а также реализуемые процедуры контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют во внутренних нормативных документах лаборатории.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(обязательное)

Копия свидетельства об аттестации методики измерений и приложений к
свидетельству об аттестации



002000

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ
(Росстандарт)
Федеральное государственное унитарное предприятие
«Уральский научно-исследовательский институт метрологии»
(ФГУП «УНИИМ»)
Государственный научный метрологический институт

СВИДЕТЕЛЬСТВО об аттестации методики (метода) измерений

№ 222.0024/01.00258/2015

Методика измерений массовой концентрации селена в пробах крови человека
наименование методики, включая наименование измеряемой величины, и, при необходимости,
атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией,
объекта измерений, дополнительных параметров и реализуемый способ измерений

предназначенная для применения в клинично-диагностических, экологических,
область использования
санитарно-гигиенических, судебно-медицинских и научных организациях,

разработанная ФГБУН ИТ ФМБА России (192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1)
наименование и адрес организации (предприятия), разработавшей методику

и содержащаяся в Методических указаниях по методам контроля ФМБА России
обозначение и наименование документа, содержащего методику, год утверждения, число страниц
"Методика измерений массовой концентрации селена в пробах крови человека атомно-
абсорбционным методом с электротермической атомизацией", год утверждения-2015, 28 с.

Методика аттестована в соответствии с ФЗ № 102 "Об обеспечении единства измерений"
и ГОСТ Р 8.563-2009.

Аттестация осуществлена по результатам метрологической экспертизы материалов по
теоретических и (или) экспериментальных исследований
разработке методики измерений и экспериментальных исследований.

В результате аттестации методики измерений установлено, что методика измерений
нормативно-правовой документ в области обеспечения единства измерений (при наличии) и ГОСТ Р 8.563
соответствует требованиям, предъявляемым ГОСТ Р 8.563-2009.

Показатели точности измерений приведены в приложении на 1 л.

Директор

С.В. Медведевских

Зав. лабораторией

О.Б. Пономарева

Дата выдачи

26.02.2015

Рекомендуемый срок пересмотра
методики измерений: ---



Россия, 620000, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, 4
Тел.: (343) 350-26-18, факс: (343) 350-20-39. E-mail: unim@unim.ru



ПРИЛОЖЕНИЕ

к свидетельству № 222.0024/01.00258/2015

об аттестации методики измерений массовой концентрации селена в пробах крови человека атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией

на 1 листе

1. Диапазон измерений, значения характеристик погрешности и ее составляющих

Диапазон измерений, мкг/дм ³	Относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости, $\sigma_{r,o}$, %	Относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости ¹ , $\sigma_{R,o}$, %	Границы относительной систематической погрешности при доверительной вероятности $P=0,95$, $\pm\delta_c$, %	Границы относительной погрешности при доверительной вероятности $P=0,95$, $\pm\delta$, %
от 1,0 до 15,0 вкл.	8	17	11	35
св. 15,0 до 50,0 вкл.	7	12	10	25

2. Диапазон измерений, значения пределов повторяемости, воспроизводимости и критического диапазона при доверительной вероятности $P=0,95$

Диапазон измерений, мкг/дм ³	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения для двух результатов параллельных определений), r_o , %	Критический диапазон (относительное значение допускаемого расхождения для четырех результатов параллельных определений), $CR_{0,95}(4)_{o}$, %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения для двух результатов измерений, полученных в разных лабораториях), R_o , %
от 1,0 до 15,0 вкл.	22	29	47
св. 15,0 до 50,0 вкл.	19	25	* 33

Старший инженер ФГУП «УНИИМ»,
эксперт-метролог (сертификат № RUM 02.33.00508-2)



Ю.В. Канаева

Дата выдачи: 26.02.2015

¹ значение среднеквадратического отклонения воспроизводимости установлено на основе результатов межлабораторного эксперимента при первичной аттестации методики (свидетельство об аттестации № 222.0149/01.00258/2012).

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное медико-биологическое агентство
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»

Система стандартизации в здравоохранении Российской Федерации
Группа 4.1. Химические факторы

**Методика измерений массовой концентрации селена в пробах крови человека
атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией**

Методические указания по методам контроля
ФМБА России МУК 4.1. 031-15

Директор института, д.м.н.



Е.Ю. Бонитенко

Ученый секретарь, к.б.н.



И.А. Шабунова

Исполнители:

Научный руководитель разработки,
зав. лабораторией, к.х.н.



Н.Б. Иваненко

Ответственный исполнитель,
научный сотрудник, к. х. н.



Н.Д. Соловьев