

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Измерение массовой концентрации  
акролеина в крови  
методом высокоэффективной  
жидкостной хроматографии**

Методические указания  
МУК 4.1.3158—14

Издание официальное

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

**4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Измерение массовой концентрации акролеина  
в крови методом высокоэффективной  
жидкостной хроматографии**

**Методические указания  
МУК 4.1.3158—14**

ББК 51.20

ИЗ7

**ИЗ7 Измерение массовой концентрации акролеина в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014.—18 с.**

ISBN 978—5—7508—1358—2

1. Разработаны: ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (Т. С. Уланова, Н. В. Зайцева, Т. Д. Карнажицкая, Е. О. Пшеничникова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 26 декабря 2013 г. № 4).

3. Утверждены врио руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главного государственного санитарного врача Российской Федерации А. Ю. Поповой 24 февраля 2014 г.

4. Введены впервые.

**ББК 51.20**

ISBN 978—5—7508—1358—2

© Роспотребнадзор, 2014

© Федеральный центр гигиены и  
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014

**УТВЕРЖДАЮ**

Врио руководителя Федеральной службы  
по надзору в сфере защиты прав  
потребителей и благополучия человека,  
Главного государственного санитарного  
врача Российской Федерации

А. Ю. Попова

24 февраля 2014 г.

**4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Измерение массовой концентрации акролеина  
в крови методом высокоэффективной  
жидкостной хроматографии**

**Методические указания  
МУК 4.1.3158—14**

---

Свидетельство о метрологической аттестации № 88-16374-008-01/00076—2013 от 08.02.2013.

**1. Назначение и область применения**

1.1. Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для измерения массовой концентрации акролеина в крови в диапазоне концентраций от 0,1 до 5,0 мг/дм<sup>3</sup>.

1.2. Методические указания по измерению массовой концентрации акролеина в крови 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
$T_{пл.}, ^\circ C$	-87,7
$T_{кип.}, ^\circ C$	52,7
Плотность при 20 $^\circ C$ , г/см <sup>3</sup>	0,8389
Растворимость в воде при 20 $^\circ C$ , %	20,85
Растворим	в этаноле, ацетонитриле, ацетоне, диэтиловом эфире
Давление насыщенных паров при 20 $^\circ C$ , кПа	29
ПДК, мг/дм <sup>3</sup>	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 <sup>3</sup>	Показатель точности (границы относительной погрешности), $\pm \delta$ , % при $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднее квадратическое отклонение повторности), $\sigma_r$ , %	Показатель воспроизводимости (относительное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости), $\sigma_R$ , %	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в одной лаборатории), $r$ , % (при $P = 0,95$ $n = 2$ )
Кровь	0,1—5	30	11	15	31

Значения показателя точности используют при:

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

#### 4. Метод измерения

Измерение массовой концентрации акролеина в крови 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 – 2 нг. Средняя полнота извлечения свободного акролеина из крови – 84 %.

#### 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 второго 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  $\pm 0,15$  мг

Гири Г<sub>2</sub>-210

Пипетки мерные градуированные 1-2-1-1, 1-2-1-5, 1-2-1-10

Шприц хроматографический жидкостный емкостью 10 и 50 мм<sup>3</sup> с ценой деления 5 мм<sup>3</sup> и погрешностью измерения 1 %

Колбы мерные 2-50-2, 2-100-2

Пробирки стеклянные мерные П-2-10-14/23 ХС

ГОСТ Р 53228—2008

ГОСТ 7328—2001

ГОСТ 29227—91

ГОСТ 1770—74

ГОСТ 1770—74

Цилиндры мерные 2-100-1 с пришлифованной пробкой ГОСТ 1770—74

Микродозаторы, с переменным объемом 100—1 000 мм<sup>3</sup>, 1 000—5 000 мм<sup>3</sup> и пределом допускаемой погрешности измерения не более  $\pm 2\%$   
рН-метр лабораторный (основная погрешность измерения не более  $\pm 0,05$  единиц рН)

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 (метилловый спирт), хч

ГОСТ 6995—77

Этанол (этиловый спирт) ректифицированный

ГОСТ Р 51652—2000

Кислота хлористоводородная, ампулы для приготовления 0,1 н 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 (9-водный), (имп.), содержание иона железа (III) 21—23 %

ТУ 2141-002-58318296—2005

Гидроксиламина гидрохлорид, чистый

ГОСТ 5456—79

7-гидроксихинолин, чистота не менее 99,0 %

Магний серно-кислый 7-водный, хч

ГОСТ 4523—77

Раствор гепарина в ампулах (5 000 ед. в 1 см<sup>3</sup>)

ФС 42-1327—99

**Примечание.** Допускается использование реактивов с более 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

ТУ 16.531.743—83

Центрифуга лабораторная с частотой вращения ротора от 500 до 2 700 об./мин для пробирок вместимостью 2 см<sup>3</sup>

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<sup>3</sup>

ГОСТ 25336—82

Мешалка магнитная от 120 до 1 500 об./мин

Пробирки из полипропилена конические градуированные вместимостью 15 см<sup>3</sup>

Шприц медицинский одноразовый типа Люэр вместимостью 5 см<sup>3</sup>

ГОСТ Р ИСО 7886—2009

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—2009, 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 безо-



пасности 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  $(22 \pm 2)$  °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 50 °С.

### **9.2. Приготовление растворов**

9.2.1. *Раствор для элюирования А.* В стакан вместимостью 600 см<sup>3</sup> вносят 500 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, устанавливают на магнитную мешалку, помещают в раствор электроды рН-метра, небольшими порциями с помощью стеклянной пипетки вносят концентрированную фос-

форную кислоту при перемешивании до установления pH 2,5. Срок хранения раствора 5 дней.

9.2.2. *Раствор для элюирования В.* В мерный цилиндр 2-100-1 помещают 25 см<sup>3</sup> метанола, доводят до 100 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>.* В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают навеску 0,1255 г 3-аминофенола, растворяют в 40—45 см<sup>3</sup> 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 гидроксилamina соляно-кислого, молярная концентрация 0,043 моль/дм<sup>3</sup>.* В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают навеску 0,1494 г гидроксилamina соляно-кислого, растворяют в 40—45 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>.* В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают навеску 0,28 г железа (III) сульфата, девятиводного, растворяют в 50—60 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, добавляют 1 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 2 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> помещают 40—45 см<sup>3</sup> спирта этилового, 50 мм<sup>3</sup> чистого акролеина (с учетом плотности 42 мг) и доводят этиловым спиртом до метки. Массовая концентрация акролеина в исходном рас-

творе – 0,84 мг/см<sup>3</sup>. 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<sup>3</sup> помещают 40—45 см<sup>3</sup> спирта этилового, 0,6 см<sup>3</sup> исходного раствора акролеина и доводят этиловым спиртом до метки. Массовая концентрация акролеина в разбавленном растворе составляет 0,005 мг/см<sup>3</sup>. Используют свежеприготовленный раствор.

9.2.10. *Раствор 7-гидроксихинолина для идентификации продукта реакции акролеина с 3-аминофенолом*. В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают навеску 0,0100 г 7-гидроксихинолина, растворяют в 5—6 мл раствора 0,1 Н хлористо-водородной кислоты, доводят до метки дистиллированной водой. Концентрация 7-гидроксихинолина в растворе составляет 100 мкг/см<sup>3</sup>. 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<sup>3</sup>/мин в течение 0,5 ч, затем подают элюент состава: 94 % (объемная доля) раствора для элюирования А, 6 % (объемная доля) раствора для элюирования В со скоростью 0,2 см<sup>3</sup>/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<sup>3</sup>/мин, 36 мин – остановка разгонки.

### 9.4. Построение градуировочной характеристики

9.4.1. Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика 7-гидроксихинолина (дерибат акролеина) от массовой концентрации акролеина в крови устанавливают методом абсолютной градуировки по трем сериям растворов. Каждую серию, состоящую из шести градуировочных растворов, готовят из раствора акролеина для градуировки № 2, приготовленного по п. 9.2.9.

9.4.2. Градуировочные растворы готовят в стеклянных пробирках с притертой пробкой вместимостью 10 см<sup>3</sup>. Для этого в каждую пробирку вносят 0,25 см<sup>3</sup> цельной крови с гепарином, раствор акролеина для градуировки и этанол в соответствии с табл. 2. В соответствии с п. 11 про-

водят анализ холостой пробы. При наличии анализируемого вещества в холостой пробе вычитают его фоновое содержание при построении градуировки.

Таблица 2

Градуировочные растворы для определения акролеина в крови

Номер раствора	1	2	3	4	5	6
Объем раствора акролеина для градуировки ( $C = 0,005$ мг/см <sup>3</sup> ), см <sup>3</sup>	0,005	0,015	0,035	0,050	0,125	0,25
Объем этанола, см <sup>3</sup>	0,245	0,435	0,215	0,200	0,125	0
Массовая концентрация акролеина в крови, мг/дм <sup>3</sup>	0,1	0,3	0,7	1,0	2,5	5,0

Проводят реакцию дериватизации для перевода акролеина в форму производного (7-гидроксихинолина). В каждую пробирку с градуировочным раствором добавляют 2 см<sup>3</sup> раствора 3-аминофенола, 2 см<sup>3</sup> раствора гидроксиламина соляно-кислого, 0,1 см<sup>3</sup> раствора сульфата железа, 0,2 см<sup>3</sup> раствора серной кислоты. Пробирки закрывают пробкой и тщательно перемешивают содержимое интенсивным встряхиванием. Пробирки нагревают на водяной бане 15 мин при температуре 100 °С, периодически открывая пробки. После охлаждения очищают прореагировавшую смесь способом твердофазной экстракции. Для этого в пробирку добавляют 0,35 г магния серно-кислого 7-водного и 0,05 г сорбента для хроматографии С<sub>18</sub>, интенсивно встряхивают смесь в течение 1 мин, переносят в конические пробирки из полипропилена и центрифугируют 10 мин со скоростью 2 000 об./мин. Надсадочный слой отбирают и пропускают через пористый фильтр (размер пор 0,45 мкм), используя шприц медицинский типа Люэр, фильтрат собирают в виалу, анализируют 20 мм<sup>3</sup> экстракта в рабочем режиме хроматографа.

#### 9.4.3. Режим работы хроматографа:

- колонка 4,6 мм × 150 мм, заполненная сорбентом С<sub>18</sub>;
- 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, 30 мин – остановка разгонки, время после анализа – 6 мин;
- скорость движения элюента 0,2 см<sup>3</sup>/мин;
- флуориметрический детектор:

– длина волны возбуждения	243 нм
– длина волны эмиссии	501 нм
– температура термостата колонки	27 °С.

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<sup>3</sup>;

$S_i$  – среднее значение трех 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 ( $n = 6$ ).

Градуировку проводят при смене реактивов или разделительной колонки.

#### 9.4.4. 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:

$$|C_m - C| \leq 0,15 \cdot C, \text{ где} \quad (1)$$

$C$  – 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 крови объемом  $1 \text{ см}^3$  в пробирку, содержащую  $0,025 \text{ см}^3$  гепарина. Отобранные пробы хранят в холодильнике при температуре  $4-6 \text{ }^\circ\text{C}$ , срок хранения проб 8 ч.

### 10.2. Порядок выполнения измерений

Выполняют два параллельных измерения массовой концентрации акролеина в образце крови. Для этого в стеклянные пробирки с притертой пробкой вместимостью  $10 \text{ см}^3$  вносят по  $0,25 \text{ см}^3$  пробы крови, добавляют  $0,25 \text{ см}^3$  этанола,  $2 \text{ см}^3$  раствора 3-аминофенола,  $2 \text{ см}^3$  раствора гидроксилamina соляно-кислого,  $0,1 \text{ см}^3$  раствора сульфата железа,  $0,2 \text{ см}^3$  раствора серной кислоты, закрывают пробкой. Смесь интенсивно встряхивают, нагревают на водяной бане 15 мин при температуре  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ , периодически открывая пробирки. После охлаждения очищают прореагировавшую смесь способом твердофазной экстракции. Для этого в каждую пробирку добавляют  $0,35 \text{ г}$  магния серно-кислого 7-водного и  $0,15 \text{ г}$  сорбента для хроматографии  $\text{C}_{18}$ , интенсивно встряхивают смесь в течение 1 мин, переносят в конические пробирки из полипропилена и центрифугируют 10 мин со скоростью  $2000 \text{ об./мин}$ . Надосадочный слой отбирают и пропускают через пористый фильтр (размер пор  $0,45 \text{ мкм}$ ), используя шприц медицинский типа Люэр, фильтрат собирают в вialу, анализируют  $20 \text{ мм}^3$  экстракта в рабочем режиме хроматографа.

## 11. Обработка результатов измерений

11.1. Массовую концентрацию акролеина в крови ( $\text{мг/дм}^3$ ) вычисляют по формуле:

$$C = S_i \cdot K, \text{ где}$$

$C$  – массовая концентрация акролеина в анализируемой пробе,  $\text{мг/дм}^3$ ;

$S_i$  – площадь пика 7-гидроксихинолина на хроматограмме, (усл. ед.);

$K$  – градуировочный коэффициент.

11.2. За результат измерения  $\bar{C}$  принимают среднее арифметическое значение двух результатов измерений, полученных в условиях по-

вторяемости  $C_1, C_2$  (параллельных определений), для которых выполняется условие:

$$|C_1 - C_2| \leq 0,01 \cdot r \cdot \frac{C_1 + C_2}{2}, \text{ где} \quad (2)$$

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

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

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

$CR_{0,95}(4)$  – 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 <sup>3</sup>	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 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 0,1 до 5 вкл.	31	40	42

При невыполнении условия (3) в качестве окончательного результата измерений принимают медиану четырех результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (параллельных определений). Выявляют и устраняют причины, приводящие к невыполнению условий (2) и (3).

## 12. Оформление результатов измерений

Результат измерений представляют в виде  $(\bar{C} \pm \Delta)$  мг/дм<sup>3</sup>, где

$\bar{C}$  – средний результат измерений, мг/дм<sup>3</sup>;

$\Delta$  – характеристика погрешности, мг/дм<sup>3</sup> при  $P = 0,95$ , значение  $\Delta$  рассчитывают по формуле:  $\Delta = \frac{\delta \cdot C}{100}$ , где  $\delta$  – 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)—2002 и РМГ 76—2004.

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  $K_x$  с нормативом контроля  $K$ .

Результат контрольной процедуры  $K_x$  рассчитывают по формуле

$$K_x = | \bar{C}' - \bar{C} - C_d |, \text{ где}$$

$\bar{C}'$  – 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);

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



Норматив контроля  $K$  рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta_{n,c_p}^2 + \Delta_{n,c_{sp}}^2}, \text{ где}$$

$\Delta_{n,c_p}$ ,  $\Delta_{n,c_{sp}}$  – 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:  $\Delta_n = 0,84 \cdot \Delta$ , с последующим уточнением по мере накопления информации в процессе контроля стабильности результатов измерений.

Процедуру измерений признают удовлетворительной при выполнении условия:

$$K_x \leq K \quad (4)$$

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 крови (рабочие пробы).

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

Результат контрольной процедуры признают удовлетворительным при выполнении следующего условия:

$$\frac{|\bar{C}_1 - \bar{C}_2|}{(\bar{C}_1 + \bar{C}_2)/2} \cdot 100 \% \leq R_x, \text{ где} \quad (5)$$

$\bar{C}_1$  и  $\bar{C}_2$  – результаты измерений массовых концентраций акролеина, полученные в условиях внутрилабораторной прецизионности, т. е. в одной лаборатории в разное время, разными операторами;

$R_r$  – 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 <sup>3</sup>	Предел внутрилабораторной прецизионности (относительное значение допускового расхождения между двумя результатами измерений, полученными в одной лаборатории в разное время, разными операторами), $R_r$ , %
От 0,1 до 5 вкл.	34

### 13.3. Проверка приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях воспроизводимости

Образцами для проверки приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях воспроизводимости, являются образцы крови 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 крови (специально подготовленные образцы крови с внесенными добавками аттестованного раствора акролеина) с одинаковым содержанием акролеина.

Результаты измерений признают приемлемыми при выполнении условия

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

$\bar{C}_1$  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 (б) результаты измерений, полученные в двух лабораториях, являются совместимыми и может быть рассчитано общее среднее арифметическое результатов измерений, полученных в двух лабораториях.

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

**Измерение массовой концентрации акролеина в крови методом  
высокоэффективной жидкостной хроматографии**

**Методические указания  
МУК 4.1.3158—14**

Редактор Н. В. Кожока  
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 03.12.14

Формат 60x84/16

Тираж 200 экз.

Усл. печ. л. 1,10  
Заказ 81

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  
отделом издательского обеспечения  
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора  
117105, Москва, Варшавское ш., 19а

Отделение реализации, тел./факс 8(495)952-50-89