

Статья поступила в редакцию 22.01.2015,
доработана 10.10.2016

УДК 006.9:53.89.68:543.5
DOI 10.20915/2077-1177-2016-0-3-38-46

СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ В МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Малов А.М.

Представлены общие сведения о применении СО состава растворов токсичных металлов и СО состава биологических тканей, содержащих токсичные металлы (ТМ), при проведении измерений содержания ТМ в биологических материалах. Описаны и проанализированы подходы приготовления материалов СО состава крови, содержащих Pb, Hg, Cd, Be и Tl, разработанные в ФГБУН ИТ ФМА России совместно с ФГУП «УНИИМ». Приведены сведения о необходимости при разработке, утверждении, аттестации соответствующих методик измерений содержания ТМ в биологических материалах в качестве обязательного условия включать требования об использовании СО состава биологических тканей, аналит в матрицу материала которых встроен естественным способом в результате метаболических процессов. Аналогичное требование следует предъявлять при аккредитации и лицензировании медицинских и биологических лабораторий, а также лабораторий химического и аналитического контроля.

Ключевые слова: референтный материал, стандартные образцы, биологические среды, токсичные металлы.

✓ **Ссылка при цитировании:** Малов А.М. Стандартные образцы в медико-биологических исследованиях // Стандартные образцы. 2016. № 3. С. 38–46. DOI 10.20915/2077-1177-2016-0-3-38-46.

Автор:

МАЛОВ А.М.

Ведущий научный сотрудник ФГБУН «Института токсикологии
Федерального медико-биологического агентства» России
(ФГБУН ИТ ФМБА), канд. биол. наук
192019, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1
Тел.: (8) 906-256-11-49
E-mail: malexmish@rambler.ru

Используемые сокращения

ААС – атомно-абсорбционная спектрометрия
ГСО – стандартный образец утвержденного типа
ИСП-АЭС – атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой
ИСП-МС – масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой
МВИ – методика измерений
МУК – методические указания

РМ – референтный материал
СО – стандартный образец
ТЗ – техническое задание
ТМ – токсичный металл
ХП – холодный пар (метод)
ЭТА – электротермическая атомизация
NIST – Национальный институт стандартов и технологий США

Введение

Методы исследования минерального (элементного) состава биологических сред продолжают оставаться в сфере внимания аналитиков. Аппаратурному оформлению методов анализа, собственно анализу уделяется достаточное внимание [1–3]. Однако пробоподготовка биологического материала, применение и качество стандартных образцов (СО) состава биологических сред для метрологического обеспечения измерений остаются в тени, хотя именно эта составляющая часть методик измерений может быть определяющей для конечного результата анализа, контроля точности измерений.

Обзор доступных российских источников информации по методикам измерений свидетельствует о том, что СО достаточно редко используются в отечественной аналитике токсичных металлов (ТМ) при биологических исследованиях, в медицинской практике и ветеринарии. В трудах зарубежных исследователей указание на применение соответствующих СО является необходимым для опубликования материалов экспериментальных работ. Причин такого несоответствия несколько. Во-первых, исключительная скудость отечественного рынка в части СО состава биологических сред, содержащих ТМ. Во-вторых, финансовые и санитарно-гигиенические ограничения для использования зарубежных СО состава биологических сред. Не способствует внедрению СО в практику отечественной аналитической химии биологических сред также отсутствие нормативов, ограничивающих публикацию результатов аналитических исследований без указания на примененные в этой работе СО, а также требований использования соответствующих СО при лицензировании испытательных центров и лабораторий.

Сказанное выше в полной мере относится к СО состава биологических сред, содержащих ТМ. Востребованность в таких продуктах особенно велика в нашей стране с развитой металлургической и горнодобывающей промышленностью, развитыми машиностроением и судостроением, мощным химическим производством и разветвленной сетью научно-экспериментальных институтов и лабораторий, использующих ТМ. Контроль за состоянием здоровья работников и населения вообще, лечение отравлений ТМ, научные исследования в этих условиях невозможны без соответствующей аналитической базы.

В последние годы в России появилось достаточно много современного аналитического оборудования, в том числе масс-спектрометры с индуктивно-связанной плазмой, атомно-эмиссионные спектрометры с индуктивно-связанной плазмой, атомно-абсорбционные спектрометры с электротермической атомизацией,

атомно-абсорбционные спектрофотометры холодного пара, вольтамперометрические анализаторы. Но отечественная нормативная база по их применению, в частности по использованию СО для метрологического обеспечения измерений, разработана слабо.

Например, анализ МУК 4.1.1470–03 [4] и МУК 4.1.1472–03 [5] показывает, что для градуировки атомно-абсорбционного анализатора рекомендуется для применения СО состава водного раствора ионов ртути (ГСО 8004–93¹). В то же время нет сведений о необходимости применения матричных СО для контроля точности измерений при анализе биологических материалов (волос, мочи, альвеолярной жидкости и др.). Очевидно, подразумевается, что матрица волос, мочи, альвеолярной жидкости и т.д. идентична таковой воды.

Аналогично обстоит дело с другим методом анализа – масс-спектрометрией с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС), а именно в отношении МУК 4.1.1483–03 [6]. В этом документе в качестве стандарта предлагается использовать растворы производства фирмы Perkin-Elmer. Проблема даже не в том, что это зарубежные продукты, а в том, что это также водные растворы, не предполагающие в СО состава биологической матрицы.

Документ МУК 4.1.027–12 [7], описывающий методику измерения содержания кадмия (Cd) методом атомно-абсорбционной спектроскопии в крови предполагает при градуировке средства измерений использовать СО состава водного раствора ионов кадмия, что, очевидно, верно, но о необходимости контроля точности результатов измерений содержания кадмия в крови посредством использования СО состава крови, содержащей кадмий, информация отсутствует.

Аттестованная методика измерений массовой концентрации бериллия (Be) в пробах крови человека атомно-абсорбционным методом² предполагает использование для калибровки анализатора водный раствор ионов бериллия – ГСО № 7759–2000³. О применении при этом СО состава крови, содержащей бериллий, информация отсутствует.

¹ ГСО 8004–93/8006–93 СО состава водных растворов ионов ртути (комплект № 9К) // Росстандарт [сайт]. URL: www.fundmetrology.ru/09_st_obr/view.aspx?regn=%D0%93%D0%A1%D0%9E%208004-93/8006-93.

² Методика измерений массовой концентрации бериллия в пробах крови человека атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией // Росстандарт [сайт]. URL: www.fundmetrology.ru/06_metod/2view.aspx?id=15102.

³ ГСО 7759–2000 СО состава раствора ионов бериллия // Росстандарт [сайт]. URL: www.fundmetrology.ru/09_st_obr/view.aspx?regn=%D0%93%D0%A1%D0%9E%207759-2000.

Методика измерений (МВИ) содержания кадмия, свинца, меди, цинка в биологических материалах (кровь, моча) методом инверсионной вольтамперометрии МВИ № 36–03 [8] также предусматривает использование только водных растворов соответствующих металлов.

Нужно отдать должное, что в некоторых отечественных руководствах помимо СО состава раствора соли ртути для градуировки анализаторов используют также СО состава мочи фирмы Nyscomed Pharms AS (Норвегия), не имеющего свидетельства об утверждении типа, выданного Росстандартом.

За рубежом производство и использование СО состава биологических сред является элементом государственной политики, атрибутом аналитической работы в научных и прикладных исследованиях. При производстве СО состава биологических сред используют, как правило, материалы, полученные на основе соответствующих биологических сред, то есть кровь и ее компоненты, моча, мышечные ткани и т.д. Для примера можно привести мультиэлементные СО ClinChek®-Control, ClinChek®-Calibrator (Германия), изготовленные на основе крови животных; СО BCR-634 и BCR-635 (Евросоюз), изготовленные на основе человеческой крови, содержащей свинец и кадмий; РМ мяса – DORM-2 и RM 8414 или LUTS-1, TORT-2, DOLT-4 (Канада), изготовленные на основе ткани поджелудочной железы и печени, содержащие естественное представительство целого спектра металлов; SRM 2672a (NIST, США), созданный на основе донорской мочи, содержащей ртуть. Из отечественных СО состава биологических сред имеется СО состава мышечной ткани байкальского окуня (БОк-2) – ГСО 9055–2008¹, представляющий собой мелкодисперсный порошок с аттестованным значением естественной массовой доли элементов.

Следует отметить, что СО состава водных растворов, имеющие мультиэлементный состав ТМ, за рубежом также выпускают. Эти СО используются в основном для калибровки ИСП-МС и ИСП-АЭС анализаторов.

Вопрос об исключительном применении СО водного состава, содержащих ТМ, при исследовании биологических сред остается дискуссионным. Проблема, по-видимому, в том, что в документах на методики измерений не предусмотрено применение СО, содержащих ТМ, полученных из биологических сред путем естественного внедрения ТМ.

Во ФГБУН ИТ ФМБА России (Санкт-Петербург) совместно с ФГУП «УНИИМ» (Екатеринбург) разработан ряд СО состава биологических сред, содержащих некоторые ТМ. Отдельным методическим вопросам создания и применения этих СО посвящена настоящая работа.

Экспериментальная часть

В рамках государственного финансирования начиная с 2005 года ФГБУН ИТ ФМБА России (Санкт-Петербург) с ФГУП «УНИИМ» (Екатеринбург) создан спектр СО состава крови, содержащих такие металлы, как свинец, ртуть, кадмий, бериллий, таллий. В настоящее время ведется работа по получению РМ состава мочи, содержащей ТМ. По материалам этих разработок поданы заявления о получении патентов на способ и вещества, изготавливаемые этим способом.

В 2008 году Росстандартом выдан первый документ об утверждении типа стандартного образца ГСО 9104–2008 СО состава крови², содержащей свинец (СО BL-Pb) [26]. Референтный материал для этого образца изготовлен из крови крыс, которых в течение месяца поили растворами солей свинца (нитрат или ацетат), то есть вводили токсикант в организм животного путем пероральной затравки. Усредненную потребленную суточную дозу свинца определяли по объему потребленной жидкости группой крыс. На нужную концентрацию свинца в крови выходили, изучив динамику накопления свинца в крови в течение эксперимента и в зависимости от дозы. В конкретном эксперименте для приготовления рабочего раствора использовали ацетат свинца – $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$, из которого готовили раствор, добавление которого в поилки животных, с учетом установленных массы тела и водопотребления крыс, обеспечивало суточное поступление в их организм катиона свинца в нужных количествах. Анализ показал, что через 30 дней при средней суточной потребленной (по Pb^{+2}) дозе, 3,30 мг/кг в крови крыс накапливается $159,1 \pm 8,1$ мкг/дм³, при дозе 13,1 мг/кг – $292,6 \pm 15,2$ мкг/дм³, при дозе 37,5 мг/кг – $466,8 \pm 25,4$ мкг/дм³ свинца ($n = 10$).

Путем декапитации животных получали кровь, в которую естественным образом введен свинец. Порции крови смешивали, добавляя некоторое количество гепарина, чтобы предотвратить свертывание. Аликвоту этой крови анализировали на содержание свинца методом ААС на анализаторах фирмы Perkin Elmer и отечест-

¹ ГСО 9055–2008 СО состава мышечной ткани байкальского окуня (БОк-2) // Росстандарт [сайт]. URL: www.fundmetrology.ru/09_st_obr/view.aspx?regn=%D0%93%D0%A1%D0%9E%209055-2008.

² ГСО 9104–2008 СО состава крови, содержащей свинец (СО BL-Pb) // Росстандарт [сайт]. URL: www.fundmetrology.ru/09_st_obr/view.aspx?regn=%D0%93%D0%A1%D0%9E%209104-2008.

венном МГА-915⁺. Расфасованную по флаконам кровь (3 см³) замораживали до –15 °С, а затем лиофилизировали. Отдельные порции лиофилизата – красно-бурый кристаллический порошок – смешивали и получали таким образом референтный материал. Рассчитанные навески РМ расфасовывали по флаконам, которые герметично укупоривали и хранили положенный срок при регламентированной температуре, периодически подвергая анализу содержимое отдельных флаконов. Лيوфилизат (референтный материал) достаточно быстро растворяется в дистиллированной воде, таким образом получали восстановленную кровь, которая подвергается анализу на содержание свинца и которая, собственно, и является материалом СО. Более подробно с этой работой можно ознакомиться в отчетах и публикациях на эту тему [9, 10].

Подобным образом были изготовлены материалы СО состава крови, содержащие ртуть и кадмий – ГСО 9653–2010 (СО BL-Hg)¹ и ГСО 10128–2012 (BL-Cd)² [11]. Метрологическое обеспечение работ проведено с привлечением специалистов ФГУП «УНИИМ».

При разработке ГСО 9653–2010 материал СО получали из крови крыс. При массе крыс $188,6 \pm 6,2$ г ($n = 12$) получали от 3,5 до 4,0 см³ крови от каждого животного. Для приготовления растворов ртути использовали нитрат ртути $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \times 0,5 \text{ H}_2\text{O}$. При средней потребленной суточной дозе ртути (Hg^{2+}) $0,29 \pm 0,02$ мг/кг ($n = 24$) в крови крыс методом ААС «холодного пара» обнаружили $16,5$ мкг/дм³ ртути, методом ААС–ЭТА – $14,8$ мкг/дм³ ртути, методом ААС с пироприставкой – $15,4$ мкг/дм³ ($n = 5$) ртути.

Наряду с этим во ФГУБН ИТ ФМБА России была предпринята попытка изготовления материала СО состава крови, содержащих бериллий и таллий по упрощенной технологии, то есть в бычью кровь добавляли в нужных количествах соли соответствующих ТМ [12, 13] [7, 8]. Таким образом были получены материалы для СО состава крови, содержащей бериллий ГСО 10129–2012³ и СО состава крови, содержащей таллий ГСО 10236–2013⁴.

¹ ГСО 9653–2010 СО состава крови, содержащей ртуть (СО BL-Hg) // Росстандарт [сайт]. URL: www.fundmetrology.ru/09_st_obr/view.aspx?regn=%D0%93%D0%A1%D0%9E%209653-2010.

² ГСО 10128–2012 СО состава крови, содержащей кадмий, (BL-Cd) // Росстандарт [сайт]. URL: www.fundmetrology.ru/09_st_obr/view.aspx?regn=%D0%93%D0%A1%D0%9E%2010128-2012.

³ ГСО 10129–2012 СО состава крови, содержащей бериллий, (BL-Be) // Росстандарт [сайт]. URL: http://www.fundmetrology.ru/09_st_obr/view.aspx?regn=%D0%93%D0%A1%D0%9E%2010129-2012.

⁴ ГСО 10236 СО состава крови, содержащей таллий (BL-Tl) // Росстандарт [сайт]. URL: www.fundmetrology.ru/09_st_obr/view.aspx?regn=%D0%93%D0%A1%D0%9E%2010236-2013.

Учитывая потребности рынка и определенные недостатки примененной выше технологии получения РМ, была поставлена задача изготовить РМ крови мультиэлементного состава путем более щадящего и более рационального способа получения крови животных. Источником крови была выбрана кровь кроликов, у которых возможно прижизненное неоднократное, в достаточных объемах взятие крови. Более того, кровь кроликов по своим свойствам ближе к человеческой, она не такая вязкая, как у крыс, и не столь склонна к свертыванию (образованию сгустков). Важным усовершенствованием способа стала парентеральная заправка животных. Вместо длительной, в течение месяца, заправки животных с питьевой водой был предложен парентеральный способ введения токсикантов. Кроликам в течение первых трех дней эксперимента вводили внутримышечно раствор, содержащий необходимое количество растворенной соли ТМ. Этот способ заправки обеспечил более контролируемое, чем в предыдущем, энтеральном способе заправки, в широком диапазоне доз введение ТМ в организм животного. Экспериментально установлено, что необходимая концентрация токсикантов в крови устанавливается на 8–10-е сутки.

Если в энтеральном варианте заправки от одной крысы на 30-е сутки можно было получить в среднем около 4 см³ крови с нужным содержанием ТМ, то при втором способе, парентеральной заправке, от кролика можно взять до 50 см³ крови уже на 8–10-е сутки.

В одном из экспериментов кроликам парентерально (внутримышечно) вводили ТМ в следующих концентрациях (мг/кг) – Pb : Cd : Hg = 15,0 : 1,5 : 0,45. При этом получили следующие концентрации этих металлов в крови Pb – $232,0 \pm 39$ мкг/дм³, Cd – $20,9 \pm 1,7$ мкг/дм³, Hg – $52,3 \pm 8,4$ мкг/дм³ ($n = 4$).

Особенностью получения крови мультиэлементного состава ТМ стало явление конкуренции ТМ, свинец препятствует накоплению кадмия в крови кроликов. Было установлено, что наиболее оптимальным является отношение доз свинца, кадмия и ртути как 10 : 1 : 0,3. Более обстоятельно с этим направлением работы можно ознакомиться в отчете и заявлении на получение патента [10, 14].

В качестве способа консервации РМ был выбран метод лиофилизации, при котором получают сухой, долговременно хранящийся материал, пригодный для дальнейшего использования. Расфасованную по 3 см³ во флаконы кровь замораживали и затем подвергали лиофилизации, получая красно-бурый кристаллический порошок.

Содержание ТМ в крови является исключительно важным показателем при диагностировании токсического действия и постановке соответствующего диагноза, это, пожалуй, наиболее востребованный анализ в токсикологической практике. Анализ мочи на содержание в ней ТМ является в ряде случаев однозначно возможным при токсикологических исследованиях, например при обследовании детей или состояния почек. В принципе неинвазивные методы обследования считаются более предпочтительными в медицинской практике. С этой целью во ФГБУН ИТ ФМБА ведется разработка РМ мочи, содержащей ТМ.

В основу технологии получения РМ мочи, содержащей ТМ, положен метод парентеральной затравки крыс раствором соли ТМ (ртуть, кадмий или свинец) и высадка крыс в обменные клетки для получения мочи. Экспериментальным путем подобранные суточные дозы затравки (концентрации растворов солей ТМ) и сроки забора материала позволили создать банк крысиной мочи с нужным содержанием ТМ [15].

При лиофилизации мочи как способе ее консервации и получении РМ столкнулись со значительным пенообразованием и угрозой неконтролируемой потери материала. Эта задача была технологически решена, и восстановленная моча отвечала необходимым требованиям ТЗ на НИР.

Анализы на содержание ТМ в биологических материалах настоящего исследования были выполнены методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ЭТА и ХП), масс-спектропии с индуктивно-связанной плазмой и методом инверсионной вольтамперометрии с соблюдением соответствующих методических нормативов. Объективности ради следует сказать, что результаты анализов нередко не совпадали друг с другом. Особенно это проявилось в работе по получению РМ состава мочи, содержащей ртуть.

Было установлено, что помимо известных форм ртути в биологических средах – неорганической и органической – существует еще некоторая доля металлической формы [16]. Установление этого факта стало возможным благодаря особенностям метода ААС «холодного пара» [2]. Принципиально метод основан на летучести металлической ртути и способности к сильному поглощению атомарной, восстановленной ртути в некоторых областях спектра. Используя известные методические приемы на стадии пробоподготовки, возможно разделить органическую и неорганическую формы ртути в растворе. Прямой, без пробоподготовки, анализ раствора дает возможность определить содержание диспергированной металлической ртути. Судя по

всему, имеет место определенное равновесное соотношение этих форм в зависимости от качества материала (продукта). Рутинное использование методов ААС-ЭТА, МС-ИСП для анализа не позволяет выявить ту или иную форму, а, следовательно, общее количество ТМ.

В одном из экспериментов была произведена внутримышечная затравка белых лабораторных крыс раствором ацетата ртути в дозе 0,5 мкг/дм³. На восьмые сутки путем помещения крыс в метаболические (обменные) клетки были получены образцы мочи. При средней массе крыс 223 ± 26 г ($n = 25$) было получено по $15,3 \pm 10,3$ см³ мочи от каждой крысы. Содержание общей ртути в пробах мочи колебалось от 17,7 до 50,2 мкг/дм³. Вся моча экспериментальных крыс была объединена, таким образом был получен банк крысиной мочи с содержанием общей ртути в ней $25,6 \pm 1,2$ мкг/дм³ ($n = 5$). В одной из проб крысиной мочи с содержанием общей ртути равным 41,6 мкг/дм³ органическая форма ртути составляла 71 %, неорганическая – 14 %, а металлическая – 15 %.

При внесении в донорскую мочу неорганической водорастворимой соли ртути – так называемая упрощенная схема – получали продукт, резко отличающийся по распределению ртути по формам от такового в нативной моче с близким содержанием общей ртути. Этого следовало ожидать, так как, несмотря на подобие матриц, в этом случае ТМ не был включен в обменные процессы в организме, не произошло естественного распределения металла по формам и встраивания ТМ в матрицу биосреды. Распределение ТМ по формам, роль матрицы имеют важное значение как для аналитического процесса [17, 18], так и для интерпретации данных при диагностировании отравления и последующей терапии.

Обсуждение результатов

По-видимому, основной вопрос, возникающий при анализе настоящего материала, состоит в том, в какой мере и в каких случаях РМ, полученный по упрощенной схеме, может служить материальной основой СО, то есть делает ли добавление водорастворимой соли ТМ в кровь или мочу эти среды полноценными продуктами для изготовления соответствующих РМ и СО. Пример со ртутью показывает, что это по крайней мере не всегда возможно. О важности подбора адекватных технологий анализа и методов пробоподготовки при биологических исследованиях свидетельствуют публикации отечественных исследователей [1, 19]. В соответствующих методических указаниях, методиках измерения должны быть установлены ограничения и условия применимости конкретного метода анализа ТМ в биологической среде

и трактовка получаемых при этом данных. К этому следует добавить, что обсуждаемый упрощенный способ изготовления СО определенно не подойдет при работе с мышечной или костной тканью, волосами.

Решением вопроса может быть получение РМ биологических сред, в матрицу которых ТМ внедрен, инкорпорирован естественным образом, в процессе метаболизма. Например, при получении материала СО состава крови SRM 966 (NIST) животному перорально вводили соли свинца.

Эксплуатируемый нами подход к получению РМ состава биологической среды, содержащей ТМ, в принципе должен быть пригоден без ограничения для любого метода пробоподготовки, любого метода соответствующего анализа. При этом мы не исключаем, что в некоторых случаях путем экспериментальной проверки может быть доказана равнозначность этого способа получения РМ и упрощенного.

Что касается использования в качестве стандартов водных растворов ТМ, то, безусловно, они должны быть использованы для проверки оборудования. Собственно, для такого режима эксплуатации, то есть исследования водных растворов, анализаторы ТМ в основном и рассчитаны.

Таким образом, задача анализа биологических сред, содержащих ТМ, а также изготовления соответствующих СО состоит, во-первых, в получении биологической среды, полноценно в качественном и количественном отношении содержащей ТМ; во-вторых, в необходимости методически корректного, без потерь перевода всех форм аналита в водную фазу.

По-видимому, одной из причин в стремлении получить полноценный СО, содержащий необходимый спектр ТМ, продиктовано добавление органической формы ртути в РМ — SRM 966 [20]. Этой же цели добивались разработчики СО — DORM-2. Следует отметить тщательность, с которой в отношении полноты представительства форм металлов и адекватности матрицы разрабатывался DORM-2. При его сертификации было использовано 12 независимых методов анализа; например, содержание мышьяка, меди, железа и цинка было определено четырьмя методами. Это позволило ниве-

лировать эффект матрицы и добиться низкой ошибки результатов анализа, снизить погрешность в допустимых пределах.

Одним из косвенных подтверждений конструктивности предлагаемого нами подхода получения РМ состава биологической среды (крови), содержащей ТМ, служит опубликованная технология изготовления материала SRM 955с [21]. В основе этой разработки лежит кровь животного, которого алиментарно затравливали солями свинца. Затем, очевидно, не имея других способов введения ТМ, в полученную кровь добавляли в нужных количествах соли мышьяка, кадмия, неорганическую и органическую ртуть.

По-видимому, результатом учета многообразия факторов, влияющих на результаты анализа биологических сред, содержащих ТМ, в том числе применения РМ и СО состава биологических сред, содержащих ТМ, является скептическое суждение некоторых исследователей о надежности результатов аналитических исследований в этой области [10].

Таким образом, СО, получаемые на основе естественного биологического материала (кровь, моча и т.д.), ведут себя на всех стадиях анализа подобно материалу рабочих проб; их аттестованное значение может быть количественно с соответствующей погрешностью соотнесено с результатом определения аналита в рабочих пробах.

Выводы

При утверждении аттестации методик измерений содержания ТМ в биологических средах должно быть четкое разделение на использование СО состава водных растворов ТМ и СО состава биологических сред. Первые следует использовать для настройки, проверки работоспособности, калибровки средств измерений. СО состава биологических сред, в матрицу которых естественным образом (т.е. в результате метаболических процессов) введен (инкорпорирован) аналит, обязательны для контроля правильности измерения содержания ТМ в биологических материалах, проверки метода пробоподготовки и надежности метода в целом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Забокрицкий М.П., Сабуров В.В. Критерии выбора спектрального метода применительно к анализу микроэлементов в биологических объектах // Микроэлементы в медицине. 2014. Т. 15. № 4. С. 29–38.
2. Методы исследования и элементного состава организма: теоретические и прикладные аспекты / А.В. Скальный [и др.] // Микроэлементы в медицине. 2012. Т. 13. № 3. С. 14–18.
3. Аграфенин А.В., Безрукова П.В. Спектрометрия плазмы с лазерной абляцией и возбуждением эмиссионных спектров (СПЛАВ) в экологии, биологии и медицине (Обзор) // Микроэлементы в медицине. 2014. Т. 15. № 4. С. 8–22.

4. МУК 4.1.1470–03 Методы контроля. Химические факторы. Атомно-абсорбционное определение массовой концентрации ртути в биоматериалах (моче, волосах, конденсате альвеолярной влаги) при гигиенических исследованиях: утв. глав. гос. сан. врачом Рос. Федерации 29 июня 2003 г. // Консорциум «Кодекс» [портал]. URL: www.docs.cntd.ru/document/1200034849.
5. МУК 4.1.1472–03 Методы контроля. Химические факторы. Атомно-абсорбционное определение массовой концентрации ртути в биоматериалах животного и растительного происхождения (пищевых продуктах, кормах и др.): утв. глав. гос. сан. врачом Рос. Федерации 29 июня 2003 г. // Консорциум «Кодекс» [портал]. URL: www.docs.cntd.ru/document/1200034851.
6. МУК 4.1.1483–03 Методы контроля. Химические факторы. Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, препаратах и биологически активных добавках методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргонной плазмой: утв. глав. гос. сан. врачом Рос. Федерации 29 июня 2003 г. // Консорциум «Кодекс» [портал]. URL: www.docs.cntd.ru/document/1200032531.
7. МУК 4.1.027–12 Методика измерений массовой концентрации кадмия в пробах крови человека атомно-абсорбционным методом / Методические указания по методам контроля: утв. зам. рук. ФМБА России 6 июня 2012. М., 2012.
8. МВИ № 36–03 от 04.12.2003 г. 01315 Методика выполнения измерений содержания кадмия, свинца, меди, цинка в биологических объектах (кровь, моча) методом инверсионной вольтамперометрии // Росстандарт [портал]. URL: www.fundmetrology.ru/06_metod/2view.aspx?id=1402.
9. Разработка государственного стандартного образца состава крови, содержащей свинец (СО BL-Pb) / В.К. Сибиряков [и др.] // Труды Института токсикологии, посвященные 75-летию со дня основания. СПб.: Элби-СПб., 2010. С. 305.
10. Способ получения биологических референтных материалов для производства стандартных образцов состава этих материалов, содержащих токсичные металлы и биологический материал, полученный этим способом (варианты): пат. RU № 2431665; заявл. 18.11.2009; опубл. 20.10.2011. Бюл. № 29. 9 с. // Национальный реестр интеллектуальной собственности [сайт]. URL: www.findpatent.ru/patent/243/2431665.html.
11. Разработка государственного стандартного образца состава крови, содержащей кадмий / В.К. Сибиряков [и др.] // Медицина экстремальных ситуаций. 2013. № 4. С. 56–64.
12. Сибиряков В.К., Малов А.М., Рутковский Г.В. Разработка стандартного образца состава крови, содержащей бериллий // Актуальные вопросы радиационной медицины и промышленной токсикологии: Материалы науч.-практич. конф. (Красноярск, 28–29 марта 2012). Красноярск, 2012. С. 76–79.
13. Совершенствование средств и методов лабораторной диагностики при определении таллия в крови человека / В.К. Сибиряков [и др.] // Medline.ru. 2014. Вып. 15. № 32. С. 381–393. URL: www.medline.ru/public/art/tom15/sample_art.phtml?n_art=32&n_tom=15&lng=eng.
14. Экспериментальное обоснование технологии получения мультиэлементного образца крови с заданными концентрациями свинца, ртути и кадмия. Экспериментальное обоснование оптимальной технологии получения образцов крови лабораторных животных с мультиэлементным составом токсических металлов (свинец, ртуть, кадмий): отчет о НИР (заключ.) / ФГУН ИТ ФМБА России; рук. Е.В. Семенов. СПб., 2011. 42 с. Библиогр.: с. 32–33. Инв. №. 374.
15. Разработка методики получения образцов референтного материала СО мочи, содержащей заданные концентрации ртути: отчет о НИР (заключ.) / ФГУН ИТ ФМБА России; рук. Кашуро В.А. СПб., 2014. 71 с. Библиогр.: с. 38–40. Инв. № 377.
16. Малов А.М., Сибиряков В.К. Металлическая ртуть в моче // Донозология® и здоровый образ жизни. 2014. Т. 23. № 15. С. 43–46.
17. Прямое определение кадмия в крови и плазме человека методом атомной абсорбции в ЭТА / А.А. Иваненко [и др.] // Аналитические приборы: Тез. докл. II Всерос. конф. СПб., 2005. С. 245–246.
18. Определение химических форм микроэлементов в биологических объектах / Н.Б. Иваненко [и др.] // Аналитика и контроль. 2012. Т. 16. № 2. С. 108–112.
19. Скальная М.Г., Нотова С.В. Макро- и микроэлементы в питании современного человека: эколого-физиологические и социальные аспекты. М.: РОСМЭМ, 2004. 310 с.
20. Национальный институт стандартов и технологий США [Электронный ресурс]. URL: <http://www.nist.gov/srm>.
21. Preparation of new Carpine Blood Reference Material for Mercury Speciation Studies: NIST SRM 955c / P. Parson [et al.] // Trace Elements in Whole Blood. N.Y. Wadsworth Center, 2007. 30 p.

REFERENCE MATERIALS IN BIOMEDICAL RESEARCH

A.M. Malov

FSBSI IT FMBA RF

Russian Federation, 192019, Saint-Petersburg, ul. Bekhtereva, 1

E-mail: malexmish@rambler.ru

The paper represents general information of use of reference material (RM) of composition of toxic metal solutions and RM of composition of biological tissues which contain toxic metals (TM) when measuring the TM content in biological materials. The paper describes and analyses the approaches for preparing samples of reference materials which contain Pb, Hg, Cd, Be and Tl, developed by the Institute of Toxicology Federal Bio-Medical Agency of Russia and Ural Research Institute for Metrology. When developing, approving and certification of the relevant measurement methods for TM content in biological materials it is necessary to include, as an essential condition, the requirement to use RM of composition of biological tissues which analyte is naturally built in the material matrix as a result of metabolic process. The analogical requirement should be produced when accrediting and licensing medical and biological laboratories and laboratories of chemical and analytical control.

Key words: reference materials, certified reference materials, biological tissues, toxic metals.

✓ **When quoting reference:** Malov A.M. Standartnye obraztsy v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh [Reference materials in biomedical research]. *Standartnye obrazcy – Reference materials*, 2016, No. 3, pp. 38–46. (In Russian). DOI 10.20915/2077-1177-2016-0-3-38-46.

REFERENCES

1. Zabokritski M.P., Saburov V.V. Kriterii vybora spektralnogo metoda primenitelno k analizu mikroelementov v biologicheskikh ob'ektakh [Criteria of spectral method selecting as regards trace element analysis in biological objects]. *Mikroelementy v meditsine – Trace elements in medicine*, 2014, vol. 15, No. 4, pp. 29–38. (In Russian).
2. Skalny A.V., Skalnaya M.G., Lakarova E.V., Lomakin Yu.V., Sharipov K.O. Metody issledovaniia i elementnogo sostava organizma: teoreticheskie i prikladnye aspekty [Methods for investigation of elemental composition of the organism: theoretical and applied aspects]. *Mikroelementy v meditsine – Trace elements in medicine*, 2012, vol. 13, No. 3, pp. 14–18. (In Russian).
3. Agrafenin A.V., Bezrukova P.V. Spektrometriia plazmy s lazernoj abliatsiej i vzbuzhdeniem emissionnykh spektrov (SPLAV) v ekologii, biologii i meditsine (Obzor) [Laser induced breakdown spectroscopy in ecology, biology and medicine (review)]. *Mikroelementy v meditsine – Trace elements in medicine*, 2014, vol. 15, No. 4, pp. 8–22. (In Russian).
4. Methodological guidelines MUK 4.1.1470–03 Metody kontrolya. Khimicheskie faktory. Atomno-absorbtsionnoe opredelenie massovoj kontsentratsii rtuti v biomaterialakh (moche, volosakh, kondensate alveoliarnoj vlagi) pri gigienicheskikh issledovaniyakh [Control methods. Chemical factors. Atomic adsorption determination of mercury mass concentration in biomaterials (urine, hair, alveolar moisture condensate) when hygienic research]. (2003). Available at: www.docs.cntd.ru/document/1200034849. (In Russian).
5. Methodological guidelines MUK 4.1.1472–03 Metody kontrolya. Khimicheskie faktory. Atomno-absorbtsionnoe opredelenie massovoj kontsentratsii rtuti v biomaterialakh zhivotnogo i rastitelnogo proiskhozhdeniya (pishchevykh produktakh, kormakh i dr.) [Control methods. Chemical factors. Atomic adsorption determination of mercury mass concentration in animal and vegetable biomaterials (food products, animal foods, etc.)]. (2003). Available at: www.docs.cntd.ru/document/1200034851. (In Russian).
6. Methodological guidelines MUK 4.1.1483–03 Metody kontrolya. Khimicheskie faktory. Opredelenie soderzhanii khimicheskikh elementov v diagnostiruemykh biosubstratakh, preparatakh i biologicheskii aktivnykh dobavkakh metodom mass-spektrometrii s induktivno svyazannoj argonovoj plazmoy [Control methods. Chemical factors. Chemical element determination in diagnosticable

- bio-substrate, specimens and biologically active additive by the method of mass-spectrometry with inductive-connected argon plasma]. (2003). Available at: www.docs.cntd.ru/document/1200032531. (In Russian).
7. Methodological guidelines MUK 4.1.027–12 Metodika izmerenij massovoj kontsentratsii kadmii v probakh krovi cheloveka atomno-absorbtsionnym metodom [Measurement procedure of cadmium mass concentration in human blood sample by the atomic adsorption method]. Moscow, FSBSI “Institute of Toxicology Federal Medical-Biological Agency”, 2012. (In Russian).
8. MVI № 36–03 ot 04.12.2003. Metodika vypolneniia izmerenij sodержaniia kadmii, svintsa, medi, tsinka v bioob’ektakh (krov’, mocha) metodom inversionnoj voltamperometrii [Measurement procedure for cadmium, lead, cuprum and zinc content in biomaterial (blood, urine) by the method of stripping voltammetry]. (2003). Available at: www.fundmetrology.ru/06_metod/2view.aspx?id=1402. (In Russian).
9. Sibiriakov V.K., Ivanenko A.A., Malov A.M., Mukovskii L.A., Rutkovskii G.V., Goriaeva L.I. Razrabotka gosudarstvennogo standartnogo obraztsa sostava krovi, sodержashchej svinets (CO BL-Pb) [The development of the state reference materials of the blood that contains lead (RM BL-Pb)]. *Trudy Instituta toksikologii, posviashchennye 75-letiiu so dnia osnovaniia* [Proceedings of Toxicology Institute dedicated to 75 Aniversary of the founding], St. Petersburg, 2010, p. 305. (In Russian).
10. Malov A.M., Nechiporenko S.P., Semenov E.V., Rutkovskii G.V., Sibiriakov V.K. Sposob polucheniia biologicheskikh referentnykh materialov dlia proizvodstva standartnykh obraztsov sostava ètikh materialov, sodержashchikh toksichnye metally i biologicheskij material, poluchennyj ètim sposobom (varianty) [Production process of biological reference materials with toxic metals and biological material]. Patent RF, No. 2431665, 2009. URL: www.findpatent.ru/patent/243/2431665.html. (In Russian).
11. Sibiriakov V.K., Ivanenko A.A., Malov A.V., Rutkovskii G.V., Goriaeva L.I. Razrabotka gosudarstvennogo standartnogo obraztsa sostava krovi, sodержashchej kadmij [Preparation of a new blood certified reference material for cadmium]. *Meditsina èkstremalnykh situatsij – Medicine of extreme situations*, 2013, No. 4, pp. 56–64. (In Russian).
12. Sibiriakov V.K., Malov A.M., Rutkovskii G.V. Razrabotka standartnogo obraztsa sostava krovi, sodержashchej berillii [Development of reference material of blood composition with beryllium in content]. *Materialy nauch.-prak. konf. Aktualnye voprosy radiatsionnoj meditsiny i promyshlennoj toksikologii* [Research and practice conference proceedings “Actual issues of radioactive medicine and industrial toxicology”]. Krasnoarsk, 2012, pp. 76–79. (In Russian).
13. Sibiriakov V.K., Ivanenko A.A., Malov A.M., Rutkovskii G.V., Goriaeva L.I. Sovershenstvovanie sredstv i metodov laboratornoj diagnostiki pri opredelenii tallii v krovi cheloveka [Perfection of means and methods laboratory diagnostics at definition of thallium in blood of the person]. *Medline.ru*, 2014, vol. 15, № 32, pp. 381–393. Available at: http://medline.ru/public/art/tom15/sample_art.shtml?n_art=32&n_tom=15&lng=eng (In Russian).
14. Semënov E.V. *Èksperimental’noe obosnovanie tekhnologii polucheniia mul’telementnogo obraztsa krovi s zadannymi kontsentratsiiami svintsa, rtuti i kadmii. Èksperimental’noe obosnovanie optimal’noj tekhnologii polucheniia obraztsov krovi laboratornykh zhivotnykh s mul’telementnym sostavom toksicheskikh metallov (svinets, rtut’, kadmii): otchët o NIR (zakliuch.)* [Experimental confirmation of preparation technology multielemental blood sample with given concentration of lead, mercury and cadmium. Experimental confirmation of optimal technology of preparation of laboratory animal blood samples with multielemental composition of toxic metals (lead, mercury, cadmium): R&D report (final)]. St. Petersburg, FSBSI “Institute of Toxicology Federal Medical-Biological Agency”, 2011, 42 p. (In Russian).
15. Kashuro V.A. *Razrabotka metodiki polucheniia obraztsov referentnogo materiala SO mochi, sodержashchei zadannye kontsentratsii rtuti: otchët o NIR (zakliuch.)* [Development of preparation method for reference materials for urina with given mercury concentration: R&D report (final)]. St. Petersburg, FSBSI “Institute of Toxicology Federal Medical-Biological Agency”, 2014, p. 71. (In Russian).
16. Malov A. M., Sibiriakov V. Metallicheskaia rtut’ v moche [Metal mercury in urine]. *Prenosology and healthy lifestyle*, 2014, vol. 23, No. 15, pp. 43–46. (In Russian).
17. Ivanenko A.A. Priamoe opredelenie kadmii v krovi i plazme cheloveka metodom atomnoj absorbtsii v ETA [Direct determination of cadmium in human blood and plasma by the method of atomic adsorption in ETA]. *Tezisesy dokladov II Vserossiiskoj konferentsii “Analiticheskie pribory”* [Proceedings of the Second All-Russian Conference “Analytical instruments”]. St. Petersburg, 2005, pp. 245–246. (In Russian).
18. Nikolaeva I.V., Palesky S.V., Chirko O.S., Chernonozhkin S.M. Opredelenie khimicheskikh form mikroèlementov v biologicheskikh ob’ektakh [Determination of major and trace elements by inductively coupled mass-spectrometry in silicate rocks after fusion with LiBO₂]. *Analitika i kontrol*, 2012, vol. 16, No. 2, pp. 108–112. (In Russian).
19. Skalnaja M.G., Notova S.V. *Makro- i mikroèlementy v pitanii sovremennogo cheloveka: èkologo-fiziologicheskie i sotsial’nye aspekty* [Macro and microelements in human contemporary food: eco, physiologic and social aspects]. Moskov, ROSMJeM, 2004. 310 p. (In Russian).
20. NIST.URL: www.nist.gov/srm.
21. Parson P. [et al.] Preparation of new carpine blood reference material for mercury speciation studies: NIST SRM 955c. *Trace Elements in Whole Blood*. N.Y. Wadsworth Center, 2007, 30 p.