Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение концентрации вредных веществ в воздухе рабочей зоны

Сборник методических указаний
МУК 4.1.1575—4.1.1614—03

Выпуск 38

Москва • 2003

gost.e-ecolog.ru

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель Министра
здравоохранения Российской Федерации -
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации

_____ Г.Г.ОНИЩЕНКО
29 июня 2003.
МУК 4.1. 1609-03
Дата введения: с момента утверждения

4.1. Методы контроля. Химические факторы

Методические указания по фотометрическому измерению концентрации целлюлазы в воздухе рабочей зоны

Ферментный препарат целлюлаза,
(К 3.2.1.4 — β-1,4-глюкан-4-глюканогидролаза).
М.м. 65000.
Целлюлаза - порошок сероватого цвета со слабым запахом дрожжей. Растворим в воде.
Агрегатное состояние в воздухе - аэрозоль.

Обладает общетоксическим действием. Мало токсична при различных путях воздействия на организм. При ингаляции пыль целлюлазы вызывает раздражение верхних дыхательных путей.

ПДК в воздухе рабочей зоны - 2 мг/м^3 (аэрозоль).

Характеристика метода

Метод основан на количественном определении восстанавливающих эквивалентов, в основном целлобиозы, образующихся при гидролизе целлюлозы целлюлазой; используется способность калия железосинеродистого менять свой цвет при окислительно-восстановительной реакции с восстанавливающими эквивалентами. Измерение производят при длине волны 390-420 нм (оптимальная длина волны 405 нм). Субстратом для целлюлазы служит бумага для физико-химических анализов, представляющая собой практически чистую целлюлозу. Отбор проб проводят с концентрированием на фильтр АФА-ВП-10.

Нижний предел измерения содержания целлюлазы в анализируемой пробе 3.2 мкг.

Нижний предел измерения концентрации в воздухе (при отборе 16 л

воздуха)– 1.0 мг/м^3 .

Диапазон измеряемых концентраций в воздухе 1 - 10 мг/м^3.

Суммарная погрешность измерения не превышает ±20%.

Время выполнения измерения, включая отбор проб, не более 1.5 часов.

Определению мешают хондрозин, мелибиоза, мальтоза, лактоза, ксилобиоза, гиалобиуроновая кислота, мурамовая кислота.

Приборы, аппаратура, посуда

- Колориметр фотоэлектрический лабораторный (фотоэлектроколориметр) по ГОСТ 12083 , обеспечивающий измерения в интервалах длин волн 390 - 420 нм (оптимум 405 нм).
- Весы лабораторные ВЛР-200, ГОСТ 24104-88Е.
- Аспирационное устройство, модель 822, ТУ 64-1-862-72.
- Фильтродержатель, ТУ 96-72-05-77.
- Фильтры АФА-ВП-10, ТУ 95-743-80.
- Баня водяная с температурой терморегулирования 100±0.5°С.
- Термостат или ультратермостат, обеспечивающий температуру нагрева 37±0.2°С
- Секундомер, ГОСТ 5072.-79.
- Стаканчики СВ-19/9 и 24/10, ГОСТ 25336-82 Е.
- Стаканы вместимостью 25 мл, ГОСТ 25336-82 Е.
- Колбы 50, 100, 200, 500, 1000мл, ГОСТ 1770-74Е.
- Пипетки 1 и 10мл, ГОСТ 29227-91.
- Пробирки П1-14-120 ХС или П1-16-150, ГОСТ 25336-82Е.

Реактивы, растворы и материалы

- Целлюлаза, целлюлолитическая активность 1000 ед/г, ТУ 9231-008-05800805-93.
- Бумага для медицинских и физико-химических анализов в качестве субстрата, ТУ 13-7308001-778-89.
- D-глюкоза, ГОСТ 6086-79 .
- Ацетатный буферный раствор, pH 4.7, готовый, ГОСТ 4919.2
- Натрий углекислый, ГОСТ 83-79.
- Калий железосинеродистый, ГОСТ 4206-75.
- Вода дистиллированная, ГОСТ 6709.

Все реактивы должны быть марки х.ч. или ч.д.а.

Подготовка к измерению

1. *Приготовление стандартного раствора целлюлазы, 16 мкг/мл.*

8.0 мг целлюлазы помещают в стеклянный стаканчик, тщательно растирают стеклянной палочкой с небольшим количеством дистиллированной воды и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл. Объем раствора доводят до метки дистиллированной водой. Окончательно полученный раствор разводят в 10 раз. Стандартный раствор готовят в день проведения анализа.

2. *Приготовление растворов целлюлазы для построения градуировочного графика.*

Для градуировочного графика растворы приготовляют согласно табл.

Таблица

№№ п/п	Объем стандартного раствора целлюлазы, мл	Объем дистиллята, мл	Концентрация целлюлазы, мкг/мл	Содержание целлюлазы в объеме пробы (2мл), взятой для анализа, мкг
1	2	3	4	5
1	0.0	10.0	0.0	0.0
2	1.0	9.0	1.6	3.2
3	1.5	8.5	2.4	4.8
4	2.5	7.5	4.0	8.0
5	5.0	5.0	8.0	16.0
6	7.5	2.5	12.0	24.0
7	10.0	0.0	16.0	32.0

3. *Приготовление раствора калия железосинеродистого,* 0.60 мг/мл.

6.00 г углекислого натрия растворяют в 200 мл дистиллированной воды и переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл.

Затем в эту же колбу добавляют 0.60 г калия железосинеродистого. Объем доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Раствор хранят при комнатной температуре в темном месте в течение 2-х месяцев.

Проведение измерений и построение градуировочного графика

1. *Гидролиз целлюлазы.*

Полоску бумаги массой 100.0 мг складывают гармошкой, помещают в пробирку и заливают 2мл готового ацетатного буферного раствора. Пробирку помещают на водяную баню с температурой 37±0.2°С и прогревают в течение 10 мин. Затем в пробирку добавляют 2 мл пробы, содержащей известное количество целлюлазы (концентрации целлюлазы указаны в таблице), и гидролизуют в течение 15 минут (точно).

Аналогично приготавливают холостую пробу, где вместо раствора, содержащего целлюлазу, добавляют 2 мл дистиллята.

2. *Проведение цветной реакции.*

После этого из пробирок, содержащих опытную и холостую пробы, в другие пробирки отбирают по 0.2 мл реакционной смеси, приливают по 6 мл раствора калия железосинеродистого, смесь прогревают при температуре 100°С в течение 10 мин на водяной бане, затем охлаждают до комнатной температуры.

3. *Проведение оптических измерений.*

Оптическую плотность определяют на ФЭКе при длине волны

405 нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 5.0 мм.

Колориметрирование опытной и холостой проб ведут *на фоне* дистиллированной воды; определяют соответствующие оптические плотности - $Д_о$ и $Д_х$.

4. *Построение градуировочного графика для целлюлазы.*

Строят график, где по оси абсцисс располагают содержание фермента в пробе (5-я графа таблицы), взятой для анализа, а по оси ординат – разность $Д_х$ - $Д_о$; график строят по средним значениям разности оптической плотности для каждой концентрации. На каждую концентрацию производят по 5 параллельных определений.

Проверку калибровочного графика проводят при смене реактивов, оборудования или приборов, и не реже, чем 1 раз в месяц.

Определение концентрации целлюлазы в воздухе рабочей зоны

Отбор проб воздуха.

Для определения 0.5 ПДК целлюлазы необходимо отобрать 16 л воздуха. Пробы воздуха с объемным расходом 5 л/мин отбирают на фильтры АФА-ВП-10. Срок хранения отобранных проб в холодильнике до 1 суток.

Экстракция целлюлазы с фильтра.

Фильтр с отобранной пробой, содержащей целлюлазу из воздуха рабочей зоны, помещают в стакан и приливают 5.0 мл дистиллированной воды. Периодически встряхивая, выдерживают раствор в течение 5 мин и сливают в пробирку. Аналогичным образом проводят повторную экстракцию с фильтра и объединяют растворы. Общий объем элюата составляет 10.0 мл.

Измерения проводят точно так же, как и при установлении градуировочного графика, отбирая для анализа 2 мл из общего объема элюата. Находят $Д_х$ - $Д_о$, соответствующие данному образцу воздуха.

Если значения оптической плотности выходят за пределы рабочей зоны градуировочного графика целлюлозы ($Д$ = 0.060..0.600), то опыт необходимо повторить с раствором, имеющим большее или меньшее содержание ферментного препарата.

Обработка результатов целлюлазы

Определение содержания целлюлазы в анализируемой пробе.

Количественное определение содержания целлюлазы в объеме пробы, взятой для анализа (2 мл), проводят по предварительно построенному калибровочному графику, определяя соответствие полученной разности $D_x - D_0$ содержанию целлюлазы в пробе (5-я графа таблицы).

Вычисление концентрации целлюлазы в воздухе рабочей зоны.

Концентрацию целлюлазы в воздухе ($C_{пв}$) вычисляют по формуле:

$$C_{пв} = \frac{а \cdot в}{б \cdot V} \text{ (мг/м}^3\text{), где:}$$

а – содержание целлюлазы в объеме пробы, взятом для анализа (мкг);

б – объем анализируемой пробы (мл);

в – общий объем элюата с воздушного фильтра (мл);

V - объем воздуха (л), отобранный для анализа и приведенный к стандартным условиям (см. Приложение 1).

МУК 4.I.

Приложение I

Приведение объёма воздуха к стандартным условиям (температура 20°С и давление 760 мм рт.ст.) проводят по формуле:

$$V_{20} = \frac{V_t \cdot (273 + 20) \cdot P}{(273 + t) \cdot 101{,}33}, \text{ где}$$

V_t - объём воздуха, отобранный для анализа, л;

P - барометрическое давление, кПа (101,33 кПа=760 мм рт.ст.);

t - температура воздуха в месте отбора пробы, °С.

Для удобства расчёта V_{20} следует пользоваться таблицей коэффициентов (приложение 2). Для приведения воздуха к стандартным условиям надо умножить V_t на соответствующий коэффициент.

Коэффициенты для приведения объема воздуха к стандартным условиям

°С	Давление Р, кПа/мм рт.ст.									
	97,33/ 730	97,86/ 734	96,4/ 738	96,93/ 742	99,46/ 746	100/ 750	100,53/ 754	101,06/ 758	101,33/ 760	101,86/ 764
-30	1,1562	1,1646	1,1709	1,1772	1,1836	1,1899	1,1963	1,2026	1,2056	1,2122
-26	1,1393	1,1456	1,1519	1,1581	1,1644	1,1705	1,1768	1,1831	1,1862	1,1925
-22	1,1212	1,1274	1,1336	1,1396	1,1456	1,1519	1,1581	1,1643	1,1673	1,1736
-18	1,1036	1,1097	1,1158	1,1216	1,1278	1,1338	1,1399	1,1460	1,1490	1,1551
-14	1,0866	1,0926	1,0986	1,1045	1,1105	1,1164	1,1224	1,1284	1,1313	1,1373
-10	1,0701	1,0760	1,0819	1,0877	1,0986	1,0994	1,1053	1,1112	1,1141	1,1200
- 6	1,0540	1,0599	1,0657	1,0714	1,0772	1,0829	1,0887	1,0945	1,0974	1,1032
- 2	1,0385	1,0442	1,0499	1,0556	1,0613	1,0669	1,0726	1,0784	1,0812	1,0869
0	1,0309	1,0366	1,0423	1,0477	1,0535	1,0591	1,0648	1,0705	1,0733	1,0789
+ 2	1,0234	1,0291	1,0347	1,0402	1,0459	1,0514	1,0571	1,0627	1,0655	1,0712
+ 6	1,0087	1,0143	1,0198	1,0253	1,0309	1,0363	1,0419	1,0475	1,0502	1,0557
+10	0,9944	0,9999	1,0054	1,0108	1,0162	1,0216	1,0272	1,0326	1,0353	1,0407
+14	0,9806	0,9860	0,9914	0,9967	1,0027	1,0074	1,0128	1,0183	1,0209	1,0263
+18	0,9671	0,9725	0,9778	0,9830	0,9884	0,9936	0,9989	1,0043	1,0069	1,0122
+20	0,9605	0,9658	0,9711	0,9763	0,9816	0,9868	0,9921	0,9974	1,0000	1,0053
+22	0,9539	0,9592	0,9645	0,9696	0,9749	0,9800	0,9853	0,9906	0,9932	0,9985
+24	0,9475	0,9527	0,9579	0,9631	0,9683	0,9735	0,9787	0,9839	0,9865	0,9917
+26	0,9412	0,9464	0,9516	0,9566	0,9618	0,9669	0,9721	0,9773	0,9799	0,9851
+28	0,9349	0,9401	0,9453	0,9503	0,9555	0,9605	0,9657	0,9708	0,9734	0,9785
+30	0,9288	0,9339	0,9391	0,9440	0,9492	0,9542	0,9594	0,9645	0,9670	0,9723
+34	0,9167	0,9218	0,9266	0,9318	0,9368	0,9418	0,9468	0,9519	0,9544	0,9595
		0,9099	0,9149	0,9199	0,9248	0,9297	0,9347	0,9397	0,9421	0,9471

gost.e-ecolog.ru