УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
29 июня 2003 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Фотометрические измерения массовых концентраций целловиридина в воздухе рабочей зоны

Методические указания МУК 4.1.1753—03

1. Область применения

Настоящие методические указания устанавливают количественный фотометрический анализ воздуха рабочей зоны на содержание целловиридина в диапазоне массовых концентраций 1,0—10,0 мг/м^3.

2. Характеристика вещества

Целловиридин получают в процессе микробиологического синтеза. Ферментативная активность целловиридина выражается в его способности гидролизовать целлюлозу.

Целловиридин предназначен для использования в сельском хозяйстве при силосовании соломы и бобовых трав.

2.1. Физико-химические свойства

Целловиридин представляет собой мелкий порошок от светло-желтого до светло-коричневого цвета, без запаха. Растворим в воде.

Целлюлолитическая активность – 1 600 ед/г.

Агрегатное состояние в воздухе – аэрозоль.

2.2. Токсикологическая характеристика

Целловиридин обладает общей токсичностью.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) в воздухе рабочей зоны – 2 мг/м^3. Класс опасности – 3.

gost.e-ecolog.ru

3. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений массовых концентраций целловиридина с погрешностью, не превышающей ± 24 %, при доверительной вероятности 0,95.

4. Метод измерений

Измерение массовой концентрации целловиридина выполняется методом фотометрии.

Метод основан на количественном определении целлобиозы, образующейся при гидролизе целлюлозы целловиридином; используется способность калия железосинеродистого менять свой цвет при окислительно-восстановительной реакции. Измерение производят при длине волны 400 нм. Субстратом для целловиридина служит бумага для физико-химических анализов, представляющая собой чистую целлюлозу.

За единицу целлюлолитической активности принимают такую активность, при которой 1 грамм фермента (в стандартных условиях) катализирует образование 1 грамма восстанавливающих эквивалентов (целлобиозы) в час.

Отбор проб проводят с концентрированием на фильтр.

Нижний предел измерения содержания целловиридина в анализируемой пробе (2 $см^3$) – 10 мкг.

Нижний предел измерения концентрации целловиридина в воздухе при отборе 50 $дм^3$ воздуха – 1,0 $мг/м^3$.

Метод специфичен в условиях производства целловиридина. Определению не мешают инактивированные белки, углеводы, инактивированные штамм-продуценты.

5. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы

5.1. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы

Фотоэлектроколориметр КФК-2МП, обеспечивающий измерения на длине волны 400 нм, погрешность 1 %	
Весы лабораторные ВЛА-200	ГОСТ 24104-80Е
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
Стаканчики СВ-19/9 и 24/10	ГОСТ 25336—82
Стаканы, вместимостью 25 см^3	ГОСТ 25336—82
Колбы 50, 100, 200, 500, 1 000 см^3	ГОСТ 1770—74Е
Пипетки 1 и 10 см^3	ГОСТ 29227—91
Пробирки П1-14-120 ХС или П1-16-150	ГОСТ 25336—82Е

5.2. Реактивы

Целловиридин, целлюлолитическая активность 1 600 ед/г, содержание основного вещества не менее 95 %	ТУ 9152-008-05800805—93
Бумага для медицинских и физико-химических анализов в качестве субстрата	ТУ 13-7308001-778—89
Ацетатный буферный раствор, pH 4,7	ГОСТ 4919.2
Натрий углекислый	ГОСТ 83—79
Калий железосинеродистый	ГОСТ 4206—75
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709

Допускается применение иных средств измерения, вспомогательных устройств, реактивов и материалов, обеспечивающих показатели точности, установленные для данной МВИ.

6. Требования безопасности

6.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005—88.

6.2. При проведении анализов горючих и вредных веществ должны соблюдаться меры противопожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—76.

6.3. При выполнении измерений с использованием фотоэлектроколориметра соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкцией по эксплуатации прибора.

Работа на фотоэлектроколориметре должна проводиться в чистом помещении, свободном от пыли, паров кислот и щелочей. Вблизи фотоэлектроколориметра не должны располагаться громоздкие изделия, создающие неудобства в работе оператора (ГОСТ 15150—69).

7. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются лица с высшим и средним специальным образованием, имеющие навыки работы на фотоэлектроколориметре.

8. Условия измерений

8.1. Приготовление растворов и подготовку проб к анализу проводят в нормальных условиях при температуре воздуха (20 ± 5) °С, атмосферном давлении 84—106 кПа и влажности воздуха не более 80 %.

8.2. Измерения на фотоэлектроколориметре проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

9. Подготовка к выполнению измерений

9.1. Приготовление растворов

9.1.1. *Стандартный раствор целловиридина, 50 мкг/см^3.* В стеклянный стаканчик помещают 5,25 мг целловиридина (с учетом процентного содержания), тщательно растирают стеклянной палочкой с небольшим количеством дистиллированной воды и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3. Объем раствора доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Стандартный раствор готовят в день проведения анализа.

9.1.2. *Раствор калия железосинеродистого, 0,6 мг/см^3.* Растворяют 6 г углекислого натрия в 200 см^3 дистиллированной воды и переносят в мерную колбу вместимостью 1 000 см^3.

Затем в эту же колбу добавляют 0,6 г калия железосинеродистого. Объем доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

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

9.2. Подготовка прибора

Подготовку фотоэлектроколориметра проводят в соответствии с руководством по его эксплуатации.

9.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость величины оптической плотности от массы анализируемого вещества в пробе, взятой для анализа, устанавливают при помощи градуировочных растворов целловиридина в соответствии с табл. 1.

Таблица 1

Приготовление растворов для определения градуировочной характеристики целловиридина

№ стандарта	Объем стандартного раствора целловиридина (50 мкг/см^3), см^3	Объем дистиллированной воды, см^3	Содержание целловиридина в объеме пробы (2,0 см^3), взятой для анализа, мкг
1	0,0	10,0	0,0
2	1,0	9,0	10,0
3	1,5	8,5	15,0
4	2,5	7,5	25,0
5	5,0	5,0	50,0
6	7,5	2,5	75,0
7	10,0	0,0	100,0

Градуировочные растворы готовят непосредственно перед измерениями. Хранить не более 6 ч в бытовом холодильнике.

9.3.1. Гидролиз целлюлозы

Полоски бумаги массой 100,0 мг складывают гармошкой, помещают в пробирки и заливают 2 см^3 ацетатного буферного раствора. Пробирки помещают в водяную баню с температурой (37 ± 0,2) °С и прогревают в течение 10 мин. Затем в пробирки вносят по 2 см^3 градуировочных растворов целловиридина (также предварительно прогретых 10 мин при тех же условиях), перемешивают и включают секундомер. Пробирки выдерживают в ультратермостате 7,5 мин.

Аналогично приготавливают холостую пробу, куда вместо раствора, содержащего целловиридин, добавляют 2 см^3 дистиллированной воды.

9.3.2. Проведение цветной реакции

После этого из пробирок, содержащих опытную и холостую пробы, в заранее приготовленные другие пробирки отбирают по 0,2 см^3 раствора, приливают по 6 см^3 раствора калия железосинеродистого, смесь прогревают в кипящей водяной бане в течение 10 мин, затем охлаждают до комнатной температуры.

Раствор устойчив в течение 30 мин.

9.3.3. Проведение оптических измерений

Измеряют оптическую плотность растворов в кюветах с толщиной оптического слоя 5,0 мм при длине волны 400 нм по отношению к холостой пробе, не содержащей определяемого вещества (раствор № 1 по табл. 1).

Рабочая зона оптического поглощения для градуировочного графика лежит в пределах 0,09—0,90.

9.3.4. Построение градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость оптической плотности раствора от массы целловиридина, устанавливают по 6 сериям раствора из 5 параллельных определений для каждой серии согласно табл. 1.

Каждый из подготовленных градуировочных растворов перемешивают и измеряют оптические плотности этих растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя 5 мм при длине волны 400 нм по отношению к холостой пробе. Строят градуировочный график: на ось ординат наносят значения оптических плотностей градуировочных растворов, на ось абсцисс – соответствующие им содержания целловиридина (мкг).

Проверку градуировочной характеристики проводят 1 раз в 3 месяца или в случае смены партии реактивов, оборудования или приборов.

9.4. Отбор проб воздуха

Воздух с объемным расходом 10 $дм^3$/мин аспирируют в течение 5 мин через фильтр АФА-ВП-10, помещенный в фильтродержатель. Для определения ½ ПДК целловиридина следует отобрать 50 $дм^3$ воздуха.

Отобранные пробы хранятся в условиях сухого помещения в закрытом сосуде при комнатной температуре до 5 суток.

10. Выполнение измерения

10.1. Экстракция целловиридина с фильтра

Фильтр с отобранной пробой переносят в бюкс, приливают в него 5 $см^3$ дистиллированной воды и оставляют на 10 мин, периодически помешивая стеклянной палочкой для лучшего растворения вещества. Полученный раствор отливают в пробирку, а экстракцию продолжают, добавив в стаканчик с фильтром 5 $см^3$ дистиллированной воды. Затем фильтр тщательно отжимают и удаляют. Растворы сливают в одну пробирку. Таким образом получают 10 $см^3$ элюата целловиридина.

Степень десорбции целловиридина с фильтра равняется 97 %.

10.2. Проведение анализа

Анализ 2,0 $см^3$ элюата на содержание целловиридина проводят точно так же, как при построении градуировочной характеристики.

Оптическую плотность анализируемого раствора измеряют аналогично градуировочным растворам по сравнению с холостым, который готовят одновременно и аналогично пробам, используя чистый фильтр.

По градуировочному графику находят количество целловиридина в объеме пробы, взятой для анализа, соответствующее полученным значениям оптических плотностей.

Если значения оптических плотностей находятся за пределами рабочей зоны градуировочного графика, то опыт необходимо повторить с раствором, имеющим большее или меньшее содержание целловиридина.

11. Расчет концентрации вещества в воздухе

Массовую концентрацию целловиридина в воздухе (C, мг/м^3) вычисляют по формуле:

$$C = \frac{а \cdot в}{б \cdot V}, \text{ где}$$

$а$ – содержание целловиридина, найденное в анализируемом объеме раствора по градуировочной характеристике, мкг;

$б$ – объем пробы, взятой для анализа, см^3;

$в$ – общий объем пробы, см^3;

V – объем воздуха, отобранного для анализа и приведенного к стандартным условиям, дм^3 (см. прилож. 1).

12. Оформление результата анализа

Результат количественного анализа представляют в виде $(C \pm C \cdot \Delta/100)$ мг/м^3, $P = 0{,}95$, где Δ – характеристика погрешности, выраженная в процентах.

13. Контроль погрешности методики

Значения полученных метрологических характеристик погрешности, норматива оперативного контроля точности и норматива оперативного контроля воспроизводимости приведены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты метрологической аттестации фотометрической методики

Диапазон определяемых массовых концентраций целловиридина, мг/м^3	Наименование метрологической характеристики		
	характеристика погрешности (Δ), %; $P = 0{,}95$	норматив оперативного контроля погрешности (K), %; $P = 0{,}90$, $m = 2$	норматив оперативного контроля воспроизводимости (D), %; $P = 0{,}95$, $m = 2$
1—10	24	29	27

13.1. Оперативный контроль воспроизводимости

Оперативный контроль воспроизводимости выполняют в одной серии с анализом рабочих проб. Отбирают реальные пробы воздуха рабочей зоны из одного традиционного места отбора двумя пробоотборниками одновременно. Анализируют в соответствии с прописью методики, максимально варьируя условия проведения анализа: партии реактивов, набора мерной посуды и т. д., и получают два результата C_1 и C_2 анализов. Результаты анализа не должны отличаться друг от друга на величину большую, чем норматив оперативного контроля воспроизводимости D (%):

$$\frac{|C_1 - C_2| \cdot 200}{(C_1 + C_2)} \leq D$$

При превышении расхождения между двумя результатами норматива оперативного контроля воспроизводимости эксперимент повторяют. При повторном превышении указанного норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

13.2. Оперативный контроль точности

Внутренний оперативный контроль точности проводят для каждого интервала определяемых концентраций. Единичные контрольные измерения выполняют в одной серии с КХА рабочих проб за период, в течение которого условия проведения КХА допустимо считать постоянными. Число контрольных измерений зависит от установленных планов статистического контроля точности.

Образцами для оперативного контроля точности являются стандартные образцы с известным содержанием измеряемого вещества, величина которого должна быть близкой к анализируемым пробам.

При контроле качества результатов КХА состава воздушных сред, при отсутствии в лаборатории промышленных смесей или невозможности их создания в качестве образца для контроля, используют стандартный образец, нанесенный на фильтр или другое устройство, на которое собирают исследуемые вещества. При этом следует иметь в виду, что погрешность процедуры отбора проб контролируется путем поверки используемых пробоотборников, и расчет норматива контроля точности осуществляют, исходя из характеристики погрешности методики КХА за вычетом характеристики погрешности используемого пробоотборника и характеристики погрешности, связанной с неполным извлечением анализируемых компонентов.

Решение об удовлетворительной погрешности принимают при выполнении условия:

$$\frac{|C_{оа} - X|}{C_{оа} + X} \leq K \text{ , где}$$

$C_{оа}$ – содержание (концентрация) анализируемого вещества в образце для анализа (по приготовлению), мг/м^3;

X – измеренное содержание (концентрация) вещества, мг/м^3.

K – величина характеристики оперативного контроля точности, %.

14. Нормы затрат времени на анализ

Для проведения анализа требуется 1,5 ч.

Методические указания разработаны Российским государственным медицинским университетом (Лиманцев А. В.).

gost.e-ecolog.ru