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

Измерение массовых концентраций пиразин-3-карбоксамида (пиразинамида) в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

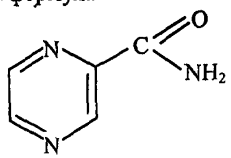
Методические указания МУК 4.1.1635—03

1. Область применения

Настоящие методические указания устанавливают количественный хроматографический анализ воздуха рабочей зоны на содержание пиразинамида в диапазоне концентраций от 1,5 до 30,0 мг/м^3.

2. Характеристика вещества

2.1. Структурная формула



2.2. Эмпирическая формула $C_5H_6N_3O$.

2.3. Молекулярная масса 123,1.

2.4. Регистрационный номер CAS 98-96-4.

2.5. Физико-химические свойства

Пиразинамид – кристаллический порошок белого или со слегка желтоватым оттенком цвета, температура плавления 188—191 °С. Растворим в воде, в смеси ацетонитрила и воды (элюенте), малорастворим

gost.e-ecolog.ru

в этиловом спирте и хлороформе. Водный раствор имеет слабокислую реакцию

Агрегатное состояние в воздухе – аэрозоль.

2.6. Токсикологическая характеристика.

Пиразинамид обладает общетоксическим действием.

Ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) в воздухе рабочей зоны – 3 мг/м^3

3. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений массовых концентраций пиразинамида с погрешностью не более ± 14 % при доверительной вероятности 0,95.

4. Метод измерений

Измерения массовых концентраций пиразинамида основаны на использовании высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением спектрофотометрического детектора при длине волны 268 нм.

Отбор проб проводится с концентрированием на фильтр.

Нижний предел измерения содержания пиразинамида в хроматографируемом объеме раствора – 0,020 мкг.

Нижний предел измерения концентрации пиразинамида в воздухе – 1,5 мг/м^3 (при отборе 100 дм^3 воздуха).

Определению не мешают крахмал, тальк, целлюлоза микрокристаллическая, титана оксид, поливинилпирролидон низкомолекулярный.

5. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы

5.1. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы

Хроматограф жидкостный микроколоночный «Милихром» со спектрофотометрическим детектором при длине волны 268 нм	
Хроматографическая колонка стальная КАХ-44-3, 50 × 2 мм, заполненная сорбентом Сепарон С18, фракция 5 мкм	
Аспирационное устройство, модель 822	ГОСТ 17.26.01—86
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104—88Е
Фильтродержатель	ТУ 95.72.05—77
Устройство для фильтрации жидкостей НПФ «Биохром»	

Колбы мерные, вместимостью 50 и 500 $см^3$	ГОСТ 1770—74Е
Пипетки, вместимостью от 1 до 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Цилиндр мерный со шлифом, вместимостью 100 $см^3$	ТУ 25.11.900—73
Пробирки с пришлифованными пробками, вместимостью 10 $см^3$	ГОСТ 25336—82Е
Бюксы $^{50}/_{30}$	ГОСТ 25336—82Е
Фильтры АФА-ВП-10	ТУ 95-743—80
Фильтры «Владипор» типа ММФК-1Г	

5.2. Реактивы

Пиразинамид, содержание основного вещества не менее 99,0 %	ФС 42-3177—98
Ацетонитрил «для жидкостной хроматографии»	ТУ-6-09-14-2167—84
Калий дигидрофосфат, хч	ГОСТ 4198—75
Ортофосфорная кислота, хч	ГОСТ 6552—58
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—72

Допускается применение иных средств измерения, вспомогательных устройств, реактивов и материалов, обеспечивающих показатели точности, установленные для данных методических указаний.

6. Требования безопасности

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

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

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

7. Требования к квалификации оператора

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

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 жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

9. Подготовка к выполнению измерения

9.1. Приготовление растворов

9 1.1. Стандартный раствор пиразинамида в растворе элюента концентрацией 200 мкг/см^3 готовится растворением 10 мг вещества в мерной колбе вместимостью 50 см^3. Раствор устойчив в течение месяца при хранении в холодильнике.

9.1.2. Раствор дигидрофосфата калия концентрацией 0,02 М готовят растворением 1,36 г указанной соли в 500 см^3 дистиллированной воды в колбе данного объема.

9.1.3. Раствор элюента готовят смешиванием в мерном цилиндре 80 см^3 0,02 М раствора дигидрофосфата калия и 20 см^3 ацетонитрила. Раствор доводят до pH 4 ортофосфорной кислотой. Непосредственно перед измерением раствор фильтруют с помощью устройства для фильтрации и фильтров «Владипор» и дегазируют под вакуумом.

9.2. Подготовка прибора

Общую подготовку прибора осуществляют согласно инструкции по эксплуатации.

9.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость величины хроматографического сигнала от массы анализируемого вещества в хроматографируемом объеме раствора, устанавливают по методу абсолютной калибровки с использованием серии градуировочных растворов, которые готовят разбавлением стандартного раствора согласно табл. 1. Растворы устойчивы в течение двух недель при хранении в холодильнике.

Растворы помещают в пробоотборное устройство хроматографа.

Условия хроматографирования градуировочных смесей и анализируемых проб:

состав элюента: ацетонитрил–0,02 М дигидрофосфата калия, 2 : 8, pH 4;

скорость потока элюента 100 мм^3/мин;

объем вводимой пробы 2 мм^3;

длина волны спектрофотометрического детектора 268 нм;

время удерживания пиразинамида 2 мин 20 с.

Таблица 1

Растворы для установления градуировочной характеристики при определении пиразинамида

№ стандарта	Стандартный раствор пиразинамида, $см^3$	Раствор элюента, $см^3$	Концентрация вещества, $мкг/см^3$	Содержание вещества в хроматографируемом объеме пробы, мкг
1	0	20	0	0,0
2	1	19	10	0,02
3	2	18	20	0,04
4	3,5	16,5	35	0,07
5	5	15	50	0,1
6	10	10	100	0,2
7	20	0	200	0,4

На полученной хроматограмме измеряют высоты пиков с помощью интегратора хроматографа (в условных единицах) при анализе 6 растворов разных концентраций и растворителя, проводя не менее 5 параллельных определений для каждого раствора, и строят градуировочную кривую зависимости площади пика от количества компонента в хроматографируемом объеме пробы (мкг)

Проверку градуировочного графика проводят при изменении условий анализа, но не реже 1 раза в месяц

9.4. Отбор пробы воздуха.

Воздух с объемным расходом 20 $дм^3$/мин аспирируют через фильтр АФА ВП-10 Для измерения концентрации пиразинамида на уровне ½ ОБУВ достаточно отобрать 100 $дм^3$ Пробы можно хранить в течение трех суток

10. Выполнение измерения

Фильтр с отобранной пробой помещают в бюкс и приливают пипеткой 7,5 $см^3$ раствора элюента Периодически встряхивая, выдерживают раствор в течение 5 мин и сливают его в пробирку Аналогичным образом проводят повторную экстракцию с фильтра и объединяют растворы Степень десорбции пиразинамида с фильтра 96 % Хроматографирование раствора пробы проводят в тех же условиях, что и хроматографирование градуировочных растворов Количественное определение содержания анализируемого вещества в растворе проводят по предварительно построенному градуировочному графику

11. Расчет концентрации

Концентрацию пиразинамида (C, мг/м^3) в воздухе вычисляют по формуле:

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

$а$ – содержание вещества в анализируемом объеме пробы, найденное по градуировочному графику, мкг;

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

$в$ – общий объем раствора пробы, см^3;

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

12. Оформление результатов анализа

Результат количественного анализа представляют в виде $(C \pm \Delta)$ мг/м^3, $P = 0,95$, где Δ – характеристика погрешности, $\Delta = 0,001 + 0,14C$.

13. Контроль погрешности методики

Значения характеристики погрешности, норматива оперативного контроля точности и норматива оперативного контроля воспроизводимости приведены в табл. 2 в виде зависимости от значения массовой концентрации анализируемого компонента в пробе C.

Таблица 2

Результаты метрологической аттестации методики количественного химического анализа

Диапазон определяемых концентраций пиразинамида, мг/м^3	Наименование метрологической характеристики		
	Характеристика погрешности Δ, мг/м^3 ($P = 0,95$)	Норматив оперативного контроля точности, K, мг/м^3 ($P = 0,90$, $m = 2$)	Норматив оперативного контроля воспроизводимости, D, мг/м^3 ($P = 0,95$, $m = 2$)
От 1,5 до 30	$0,001 + 0,14C$	$0,003 + 0,11C$	$0,004 + 0,08C$

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:

$$| C_1 - C_2 | \le D$$

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

Оперативный контроль точности выполняют в одной серии с анализом рабочих проб. Отбирают реальные пробы воздуха рабочей зоны из одного традиционного места отбора двумя пробоотборниками одновременно. Затем к одной пробе, отобранной на фильтр, делают добавку анализируемого компонента δC из раствора, нанося его на фильтр. Величина добавки должна соответствовать 50—150 % от содержания компонента в пробе. Величина C_2 не должна выходить за верхнюю границу диапазона измерения. Результаты анализа C_1 без добавки и C_2 с добавкой получают по возможности в одинаковых условиях: одним аналитиком, с одной партией реактивов, одним набором посуды и т. д.

Погрешность процедуры отбора проб контролируют путем поверки используемых пробоотборников. Расчет норматива оперативного контроля погрешности K проводят по характеристике погрешности методики за вычетом характеристики погрешности пробоотборника. Решение об удовлетворительной погрешности принимают при выполнении условия:

$$|C_2 - C_1 - \delta C| \le K$$

14. Нормы затрат времени на анализ

Для проведения серии анализов из 6 проб при последовательном отборе проб воздуха требуется 3 ч.

Методические указания разработаны Российским государственным медицинским университетом (Е. Б. Гугля).

gost.e-ecolog.ru