

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

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

спектр
**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:
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/м³ (аэрозоль).

Характеристика метода

Метод основан на количественном определении восстанавливающих эквивалентов, в основном целлобиозы, образующихся при гидролизе целлюлазы целлполазой; 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/м³.

безвкус

Диапазон измеряемых концентраций – 10 мг/м³.

Суммарная погрешность измерения не превышает 20%.

Время выполнения измерения, включая отбор проб, не более 1,5 часов.

Определению мешают хондрозин, мелибиоза, мальтоза, лактоза, ксилобиоза, гиалобиуровая 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 24104-88 Е.
- 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 $100 \pm 0.5^\circ\text{C}$.
- Терmostат или ультратерmostат, обеспечивающий температуру нагрева $37 \pm 0.2^\circ\text{C}$
- 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, 1000 мл, ГОСТ 1770-74 Е.
- Пипетки 1 и 10 мл, ГОСТ 29227-91.
- Пробирки П1-14-120 ХС или П1-16-150, ГОСТ 25336-82 Е.

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.

МУК 4.1

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 приготавливают согласно табл.

Таблица

№№ п/п	Объем стандартного рассвора целлюлазы, мл	Объем дистиллята, мл	Концентрация целлюлазы, мкг/мл	Содержание целлюлазы в объеме пробы (2м.л), 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 водянную баню с температурой $37\pm0.2^{\circ}\text{C}$ 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).

МУК 4.1

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°C 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 слоя 5.0 мм.

Колориметрирование опытной и холостой проб ведут *на фоне* дистиллированной воды; определяют соответствующие оптические плотности - \bar{D}_o и \bar{D}_x .

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 $\bar{D}_x - \bar{D}_o$; график строят по средним значениям разности $\bar{D}_x - \bar{D}_o$ для каждой концентрации. На каждую концентрацию производят по 5 параллельных определений.

Проверку калибровочного графика проводят при смене реагентов, 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 $\bar{D}_x - \bar{D}_o$, соответствующие данному образцу воздуха.

Если значения оптической плотности выходят за пределы рабочей зоны градуировочного графика целлюлазы ($\bar{D} = 0.060..0.600$), 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 соответствующие полученной разности $D_a - D_b$ содержанию целлюлазы в пробе (5-я графа таблицы).

Вычисление концентрации целлюлазы в воздухе рабочей зоны.

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

$$C_{uv} = \frac{a \cdot b}{b \cdot V} (\text{мг}/\text{м}^3), \text{ где:}$$

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 4.1.

Приложение I

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

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

V_{ε} - объём воздуха, отобранный для анализа, л;

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

ε - 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_{ε} на соответствующий коэффициент.

Коэффициенты для приведения объема воздуха к стандартным условиям

		давление Р, кг/мм рт.ст.									
°C		97,33/ 730	97,66/ 734	98,4/ 738	98,33/ 742	99,46/ 746	100/ 750	100,53/ 754	101,06/ 758	101,33/ 760	101,86/ 764
-30	I,1562	I,1645	I,1709	I,1772	I,1836	I,1899	I,1963	I,2026	I,2086	I,2142	
-26	I,1393	I,1456	I,1519	I,1581	I,1644	I,1703	I,1766	I,1831	I,1882	I,1925	
-22	I,1212	I,1274	I,1336	I,1396	I,1458	I,1519	I,1581	I,1643	I,1673	I,1735	
-18	I,1036	I,1097	I,1158	I,1216	I,1278	I,1338	I,1399	I,1460	I,1490	I,1551	
-14	I,0866	I,0926	I,0986	I,1045	I,1103	I,1164	I,1224	I,1284	I,1313	I,1373	
-10	I,0701	I,0760	I,0819	I,0877	I,0936	I,0994	I,1053	I,1112	I,1141	I,1200	
-6	I,0540	I,0599	I,0657	I,0714	I,0772	I,0829	I,0887	I,0945	I,0974	I,1032	
-2	I,0385	I,0442	I,0499	I,0556	I,0613	I,0669	I,0726	I,0784	I,0812	I,0869	
0	I,0309	I,0366	I,0423	I,0477	I,0536	I,0591	I,0646	I,0705	I,0733	I,0789	
+2	I,0234	I,0291	I,0347	I,0402	I,0459	I,0514	I,0571	I,0627	I,0655	I,0712	
+6	I,0067	I,0143	I,0198	I,0253	I,0309	I,0363	I,0419	I,0475	I,0502	I,0557	
+10	0,9944	0,9999	0,0054	I,0108	I,0162	I,0216	I,0272	I,0326	I,0353	I,0407	
+14	0,9806	0,9860	0,9914	0,9967	I,0027	I,0074	I,0126	I,0163	I,0209	I,0263	
+18	0,9671	0,9723	0,9778	0,9830	0,9884	0,9936	0,9989	I,0043	I,0069	I,0122	
+20	0,9603	0,9638	0,9711	0,9763	0,9816	0,9868	0,9921	0,9974	I,0000	I,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	0,9706	0,9734	0,9765	
+30	0,9288	0,9339	0,9391	0,9440	0,9492	0,9542	0,9594	0,9643	0,9670	0,9723	
+34	0,9167	0,9216	0,9268	0,9318	0,9360	0,9415	0,9466	0,9519	0,9544	0,9595	
+36	0,9049	0,9099	0,9149	0,9199	0,9248	0,9297	0,9347	0,9397	0,9421	0,9471	

M/R 4.1.