

**УТВЕРЖДАЮ**

Главный государственный санитарный  
врач Российской Федерации,  
Первый заместитель Министра здраво-  
охранения 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**

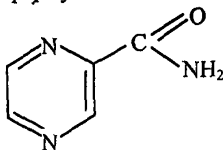
---

**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<sup>3</sup>.

**2. Характеристика вещества**

**2.1. Структурная формула**



**2.2. Эмпирическая формула** C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N<sub>3</sub>O.

**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

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<sup>3</sup>

### 3. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений массовых концентраций пиразинамида с погрешностью не более  $\pm 14\%$  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 м/м<sup>3</sup> (при отборе 100 дм<sup>3</sup> 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

Весы аналитические ВЛА-200

Фильтродержатель

Устройство для фильтрации жидкостей

НПФ «Биохром»

ГОСТ 17.26.01—86

ГОСТ 24104—88Е

ТУ 95.72.05—77

МУК 4.1.1635—03

|                                                                      |                 |
|----------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Колбы мерные, вместимостью 50 и 500 см <sup>3</sup>                  | ГОСТ 1770—74Е   |
| Пипетки, вместимостью от 1 до 10 см <sup>3</sup>                     | ГОСТ 29227—91   |
| Цилиндр мерный со шлифом, вместимостью 100 см <sup>3</sup>           | ТУ 25.11.900—73 |
| Пробирки с пришлифованными пробками, вместимостью 10 см <sup>3</sup> | ГОСТ 25336—82Е  |
| Бюксы <sup>50</sup> / <sub>30</sub>                                  | 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 ( $20 \pm 5$ ) °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  $200 \text{ мкг/см}^3$  готовится растворением  $10 \text{ мг}$  вещества в мерной колбе вместимостью  $50 \text{ см}^3$ . Раствор устойчив в течение месяца при хранении в холодильнике.

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

9.1.3. Раствор элюента готовят смешиванием в мерном цилиндре  $80 \text{ см}^3$   $0,02 \text{ М}$  раствора дигидрофосфата калия и  $20 \text{ см}^3$  ацетонитрила. Раствор доводят до  $\text{pH } 4$  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– $0,02 \text{ М}$  дигидрофосфата калия,  $2 : 8$ ,  $\text{pH } 4$ ;  
скорость потока элюента  $100 \text{ мм}^3/\text{мин}$ ;  
объем вводимой пробы  $2 \text{ мм}^3$ ;  
длина волны спектрофотометрического детектора  $268 \text{ нм}$ ;  
время удерживания пиразинамида  $2 \text{ мин } 20 \text{ с}$ .

**Растворы для установления градуировочной характеристики  
при определении пиразинамида**

| № стан-дартa | Стандартный раствор пиразинамида, см <sup>3</sup> | Раствор элюента, см <sup>3</sup> | Концентрация вещества, мкг/см <sup>3</sup> | 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<sup>3</sup>/мин аспирируют через фильтр АФА ВП-10. Для измерения концентрации пиразинамида на уровне ½ ОБУВ достаточно огобрать 100 дм<sup>3</sup>. Пробы можно хранить в течение трех суток

### **10. Выполнение измерения**

Фильтр с отобранной пробой помещают в бюкс и приливают пипеткой 7,5 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>) в воздухе вычисляют по формуле:

$$C = \frac{a \cdot v}{b \cdot V}, \text{ где}$$

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

$b$  – объем пробы, взятой для хроматографирования, см<sup>3</sup>;

$v$  – общий объем раствора пробы, см<sup>3</sup>;

$V$  – объем воздуха, отобранного для анализа и приведенного к стандартным условиям, дм<sup>3</sup> (см. прилож. 1).

## 12. Оформление результатов анализа

Результат количественного анализа представляют в виде  $(C \pm \Delta)$  мг/м<sup>3</sup>,  $P = 0,95$ , где  $\Delta$  – 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 <sup>3</sup> | Наименование метрологической характеристики                            |                                                                                        |                                                                                                 |
|--------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                    | Характеристика погрешности $\Delta$ , мг/м <sup>3</sup> ( $P = 0,95$ ) | Норматив оперативного контроля точности, $K$ , мг/м <sup>3</sup> ( $P = 0,90, m = 2$ ) | Норматив оперативного контроля воспроизводимости, $D$ , мг/м <sup>3</sup> ( $P = 0,95, m = 2$ ) |
| 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  $D$ :

$$|C_1 - C_2| \leq D$$

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**

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  $\delta C$  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 проверки 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:

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

## **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).