

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
МУК 4.1. 1609-03

2003.

Дата введения: с момента утверждения

4.1. Методы контроля. Химические факторы

спектро
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. в воде.

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 целлолозу. 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.

Диапазон измеряемых концентраций ^{в воздухе} 1 - 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, галактобиуроновая кислота, муравьиная 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°C.
- Термостат или ультратермостат, обеспечивающий температуру нагрева 37±0.2°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, 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, рН 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 приготавливают 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 $37 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 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).

Аналогично готовят 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 ФУКе 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 - D_0 и 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 $D_x - D_0$; 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 $D_x - D_0$, соответствующие данному образцу воздуха.

Если значения оптической плотности выходят за пределы рабочей зоны градуировочного графика целлюлозы ($D = 0.060..0.600$), 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 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 ($C_{цз}$) вычисляют по формуле:

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

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

b – объем анализируемой пробы (мл);

v – 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 объема воздуха к стандартным условиям (температура 20°C и давление 760 мм рт.ст.) проводят по формуле:

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

V_z - объем воздуха, отобранный для анализа, л;

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

z - температура воздуха в месте отбора пробы, °C.

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

Коэффициенты для приведения объема воздуха к стандартным условиям

| °C | Давление P, кПа/мм рт.ст. | | | | | | | | | |
|-----|---------------------------|---------------|--------------|---------------|---------------|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 97,33/ 730 | 97,66/ 734 | 98,4/ 738 | 98,93/ 742 | 99,46/ 746 | 100/ 750 | 100,53/ 754 | 101,06/ 758 | 101,33/ 760 | 101,66/ 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 | 1,1735 |
| -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 | 1,0936 | 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 | 1,0067 | 1,0143 | 1,0198 | 1,0253 | 1,0309 | 1,0363 | 1,0419 | 1,0475 | 1,0502 | 1,0557 |
| +10 | 0,9944 | 0,9999 | 0,0034 | 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 | 1,0126 | 1,0183 | 1,0209 | 1,0263 |
| +18 | 0,9671 | 0,9725 | 0,9778 | 0,9830 | 0,9884 | 0,9936 | 0,9989 | 1,0042 | 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 | 0,9432 | 0,9542 | 0,9594 | 0,9645 | 0,9670 | 0,9723 |
| +34 | 0,9167 | 0,9218 | 0,9268 | 0,9318 | 0,9368 | 0,9418 | 0,9468 | 0,9519 | 0,9544 | 0,9595 |
| +38 | 0,9049 | 0,9099 | 0,9149 | 0,9199 | 0,9248 | 0,9297 | 0,9347 | 0,9397 | 0,9421 | 0,9471 |