

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Измерение концентраций вредных веществ
в воздухе рабочей зоны**

**Сборник методических указаний
МУК 4.1.1734–4.1.1754–03**

Выпуск 46

Издание официальное

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

**Спектрофотометрическое измерение
массовых концентраций гепарина натриевой соли
в воздухе рабочей зоны**

Методические указания
МУК 4.1.1735—03

1. Область применения

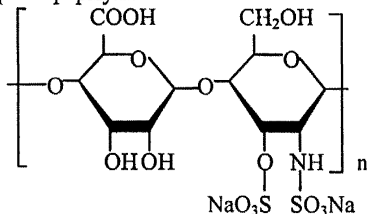
Настоящие методические указания устанавливают количественный фотометрический анализ воздуха рабочей зоны на содержание гепарина натриевой соли в диапазоне массовых концентраций 0,5—5,0 мг/м³.

2. Характеристика вещества

Гепарина натриевая соль (синонимы: depo-heparin, heparin sodium, liquaemin sodium, sodium heparinate и др.) является гликозаминогликаном (мукополисахаридом), т. е. гетерополисахаридом с повторяющимися 4-O-(α -D-глюкуронидо)-D-глюкозамин-N-сульфатными звеньями, связанными α -(1 \rightarrow 4)-гексозаминидиновыми связями; содержит 1-2-сульфатные группы на дисахаридную единицу.

Гепарина натриевая соль – это эндогенное соединение, синтез и накопление которого происходит в базофильных (тучных) клетках организма человека и млекопитающих.

2.1. Структурная формула



2.2. Эмпирическая формула $(C_{12}H_{17}O_{16}NS_2Na_2)_n$.

2.3. Молекулярная масса 12 000—16 000 дальтон.

2.4. Регистрационный номер CAS 9041-08-1.

2.5. Физико-химические свойства.

Гепарина натриевая соль – аморфный порошок белого цвета с желтоватым оттенком, без запаха, гигроскопичен. Легкорастворим в воде и изотоническом растворе 0,9 %-го раствора хлорида натрия. В воздухе находится в виде аэрозоля.

2.6. Токсикологическая характеристика.

Обладает общетоксическим действием.

Ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) в воздухе рабочей зоны – 1 мг/м^3 .

3. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений массовых концентраций с погрешностью, не превышающей $\pm 24 \%$, при доверительной вероятности 0,95.

4. Метод измерений

Измерение массовой концентрации гепарина натриевой соли выполняется методом спектрофотометрии.

Метод определения основан на взаимодействии гепарина натриевой соли с толудиновым синим, при котором происходит сдвиг спектра поглощения в коротковолновую область, вызывая изменение окрашивания раствора от сине-голубого к розовому. Измерение проводят при длине волны 500 нм.

Отбор проб проводят с концентрированием на фильтр.

Нижний предел измерения содержания гепарина натриевой соли в анализируемой пробе (2 см^3) – 10 мкг.

Нижний предел измерения концентрации гепарина натриевой соли в воздухе при отборе 100 дм^3 воздуха – $0,5 \text{ мг/м}^3$.

Метод селективен в условиях производства гепарина. Определению не мешают сопутствующие вещества (NaCl).

5. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы.

5.1. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы

Спектрофотометр типа СФ-46, длина волны 500 нм	
Аспирационное устройство, модель 822	ТУ 64-1-862—72
Фильтродержатель	ТУ 96-72-05—77
Фильтр АФА-ВП-10	ТУ 95-743—80
Колбы мерные наливные 1 или 2-го исполнения, вместимостью 25, 100, 250 см ³	ГОСТ 1770—74
Пипетки 1, 2 и 3-го исполнения, вместимостью 1, 2, 5, 10 см ³	ГОСТ 20292—74
Колбы конические, вместимостью 250 см ³	ГОСТ 10394—72
Кюветы оптические с толщиной оптического слоя 10 мм	
Дистиллятор	ТУ 61-1-721—79
Стаканчики для взвешивания	ГОСТ 25336—82
Мешалка магнитная	ТУ 25-11.834—80
Весы лабораторные аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104—80Е
Пробирки конические (центрифужные) на 10 см ³	ГОСТ 10515—75
Стеклопалочка, диаметром 4 мм, длиной 20 см	

5.2. Реактивы, растворы

Гепарина натриевая соль, ФС 42-1327-94; содержание основного вещества 99 %	
Уксусная кислота	ГОСТ 61—75
Тригидрат ацетата натрия	ГОСТ 199—68
Толуидиновый синий, фирма Sigma, США, кат. № Т3260	
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 спектрофотометра или фотоэлектроколориметра соблюдают правила электробезо-

пасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкцией по эксплуатации прибора.

7. Требования к квалификации операторов

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

8. Условия измерений

8.1. Приготовление растворов и подготовку проб к анализу проводят в нормальных условиях при температуре воздуха $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$, атмосферном давлении 84—106 кПа и относительной влажности воздуха не более 80 %.

8.2. Выполнение измерений на спектрофотометре проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

9. Подготовка к выполнению измерений

9.1. Приготовление растворов

9.1.1. *Приготовление буферного раствора (0,2 М, рН 3,7, раствор № 1).* Раствор «а» готовят путем растворения 680 мг тригидрата ацетата натрия в 25 см³ дистиллированной воды. Получают 0,2 М раствор тригидрата ацетата натрия.

Раствор «б» готовят путем смешивания 2,9 см³ уксусной кислоты с 247,1 см³ (при этом используют мерную колбу на 250 см³). Получают 0,2 М раствор уксусной кислоты.

Окончательно раствор «а» (25 см³) смешивают в мерной колбе с раствором «б» (225 см³). Получают 0,2 М буферный раствор, рН 3,7. Раствор устойчив неделю при хранении в бытовом холодильнике.

9.1.2. *Приготовление раствора толуидинового синего (0,02 %-й, раствор № 2).* В 100 см³ буферного раствора разводят 20 мг толуидинового синего. Краситель растворяется медленно. Для ускорения раствор можно подогреть до 40—50 °С, кроме того, следует использовать магнитную мешалку. Раствор может храниться неделю в бытовом холодильнике в закрытой посуде.

9.1.3. *Приготовление стандартного раствора гепарина натриевой соли (0,05 мг/см³, раствор № 3).* Стандартный раствор гепарина натриевой соли готовят путём растворения 5 мг гепарина натриевой соли в 100 см³ буферного раствора (раствор № 1).

Раствор может храниться до суток в бытовом холодильнике.

9.2. Подготовка прибора

Подготовку спектрофотометра 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 гепарина натриевой соли в соответствии с табл. 1.

Таблица 1

№ стандарта	Объем стандартного раствора гепарина натриевой соли, см ³	Объем буферного раствора, см ³	Концентрация гепарина натриевой соли, мкг/см ³	Содержание гепарина натриевой соли в объеме пробы (2 см ³), взятой для анализа, мкг
1	0,0	10,0	0,0	0,0
2	1,0	9,0	5,0	10,0
3	1,5	8,5	7,5	15,0
4	2,5	7,5	12,5	25,0
5	5,0	5,0	25,0	50,0
6	7,5	2,5	37,5	75,0
7	10,0	0,0	50,0	100,0

Градуировочные растворы готовят непосредственно перед измерениями.

Экстинкцию определяют по отношению к холостой пробе (раствор № 1, табл. 1). График строят, используя 6 градуировочных растворов с разными концентрациями гепарина натриевой соли, производя по 5 параллельных определений для каждой концентрации.

Каждую серию состоящую из 7 растворов с разной концентрацией гепарина натриевой соли (включая холостую пробу не содержащую гепарина натриевую соль), готовят в центрифужных пробирках на 10 см³. Для этого в каждую пробирку, содержащую 2,0 см³ раствора гепарина натриевой соли (в соответствии с таблицей; в случае холостой пробы – 2,0 см³ раствора № 1), добавляют 8 см³ раствора № 2. Растворы перемешивают. Через 5 мин можно фотометрировать.

Фотометрирование проводят на длине волны 500 нм. Толщина слоя раствора в спектрофотометрической кювете – 10,0 мм. Ширина щели спектрофотометра – 1,0.

Градуировочные растворы устойчивы в течение 2 ч.

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 20 дм³/мин аспирируют через фильтр АФА-ВП-10, помещенный в фильтродержатель. Для определения ½ ПДК гепарина натриевой соли следует отобрать 100 дм³ воздуха.

Пробы могут храниться на фильтре в бюксе в течение 2 недель.

10. Выполнение измерения

10.1. Экстракция гепарина натриевой соли с фильтра

Фильтр с отобранной пробой переносят в пробирку, приливают в нее 5 см³ буферного раствора (раствор № 1) и оставляют на 20 мин, периодически помешивая стеклянной палочкой для лучшего растворения вещества. Затем фильтр тщательно отжимают и удаляют. Процедуру повторяют, растворы объединяют. Общий объем раствора элюата с фильтра (общий объем пробы) равен 10 см³.

Степень десорбции гепарина натриевой соли с фильтра равняется 97 %.

10.2. Проведение анализа

Анализ 2,0 см³ элюата (объем пробы, взятой для анализа) на содержание гепарина натриевой соли 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 гепарина натриевой соли 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 гепарина натриевой соли.

11. Расчет концентрации вещества в воздухе

Массовую концентрацию гепарина натриевой соли в воздухе (C , мг/м³) вычисляют по формуле:

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

a – содержание гепарина натриевой соли, найденное в анализируемом объеме раствора по градуировочной характеристике, мкг;

b – объем пробы, взятой для анализа, см³;

v – общий объем пробы, см³;

V – объем воздуха, отобранного для анализа и приведенного к стандартным условиям, дм³ (см. прилож. 1).

12. Оформление результата анализа

Результат количественного анализа представляют в виде $(C \pm C \cdot \Delta/100)$ мг/м³, $P = 0,95$, 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 методики КХА

Диапазон определяемых концентраций гепарина натриевой соли, мг/м ³	Наименование метрологической характеристики		
	характеристика погрешности (Δ), %; $P = 0,95$	норматив оперативного контроля точности (K), %; $P = 0,90, m = 3$	норматив оперативного контроля воспроизводимости (D), %; $P = 0,95, m = 2$
0,5—5,0	24	31	57

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 повторя-

ют. 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 проверки 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:

$$\frac{|C_{oa} - X| \cdot 200}{(C_{oa} + X)} < K, \text{ где}$$

C_{oa} — содержание (концентрация) анализируемого вещества в образце для анализа (по приготовлению), мг/м³;

X — измеренное содержание (концентрация) вещества, мг/м³;

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.).

Приложение 1

Приведение объема воздуха к стандартным условиям

Приведение объема воздуха к стандартным условиям (температура 20 °С и давление 101,33 кПа) проводят по формуле:

$$V_{20} = \frac{V_1 \cdot (273 + 20) \cdot P}{(273 + t) \cdot 101,33}, \text{ где}$$

V_1 – объем воздуха, отобранного для анализа, дм^3 ;

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

t – температура воздуха в месте отбора пробы, °С.

Для удобства расчета V_{20} следует пользоваться таблицей коэффициентов (прилож. 2). Для приведения воздуха к стандартным условиям надо умножить V_1 на соответствующий коэффициент.

Коэффициенты для приведения объема воздуха к стандартным условиям

t°С	Давление P, кПа/мм рт. ст.									
	97,33/730	97,86/734	98,4/738	98,93/742	99,46/746	100/750	100,53/754	101,06/758	101,33/760	101,86/764
-30	1,1582	1,1646	1,1709	1,1772	1,1836	1,1899	1,1963	1,2026	1,2058	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	1,1458	1,1519	1,1581	1,1643	1,1673	1,1735
-18	1,1036	1,1097	1,1158	1,1218	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	1,0087	1,0143	1,0198	1,0253	1,0309	1,0363	1,0419	1,0475	1,0502	1,0557
+10	0,9944	0,9999	0,0054	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	1,0128	1,0183	1,0209	1,0263
+18	0,9671	0,9725	0,9778	0,9830	0,9884	0,9936	0,9989	1,0043	1,0069	1,0122
+20	0,9605	0,9658	0,9711	0,9783	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

**Указатель основных синонимов технических,
торговых и фирменных названий веществ**

№ п/п	Синоним	Стр.
1	Аминостигмин	29
2	Астемизол	142
3	Бемитил	158
4	Бисакодил	104
5	Диэтиловый эфир угольной кислоты	67
6	Кокарбоксилаза	6
7	Лорасепт	45
8	1-Метокси-2-пропилацетат	97
9	Напроксен	90
10	Оротат калия	119
11	<i>para</i> -Толуолсульфокислота	60
12	Прозерин	21
13	Проксифеин	37
14	Стрихнина нитрат	111
15	<i>трет</i> -Бутилгипохлорит	52
16	Трипропилснфенол	127
17	Трифенилфосфин	59