

## 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 (+ -)-2,3-дигидро-3-метил-9-фтор-10-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-оксо-7Н-пиридо[1,2,3-de]-1,4-бензоксазин-6-карбоновой кислоты (офлоксацина) в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии**

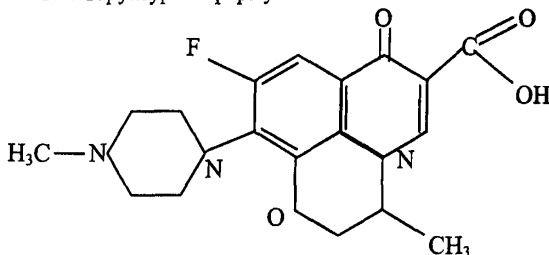
Методические указания  
МУК 4.1.1626—03

## 1. Область применения

Настоящие методические указания устанавливают количественный хроматографический анализ воздуха рабочей зоны на содержание (+-)-2,3-дигидро-3-метил-9-фтор-10-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-оксо-7Н-пиридо[1,2,3-de]-1,4-бензоксазин-6-карбоновой кислоты (офлоксацина) в диапазоне концентраций от 0,25 до 5,00 мг/м<sup>3</sup>.

## 2. Характеристика вещества

## 2.1. Структурная формула



2.2. Эмпирическая формула  $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ .

2.3. Молекулярная масса 361,4.

2.4. Регистрационный номер CAS 82419-36-1.

2.5. Физико-химические свойства.

Офлоксацин – антибактериальный препарат широкого спектра действия, кристаллический порошок слегка желтоватого цвета,  $T_{пл}$  260—280 °С, малорастворим в воде и в этиловом спирте, растворим в органических растворителях, растворим в смеси ацетонитрила и воды (элюенте).

Агрегатное состояние в воздухе – аэрозоль.

2.6. Токсикологическая характеристика.

Офлоксацин обладает антимикробным действием, вызывает нарушение микрофлоры, обладает фотосенсибилизирующим действием.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) в воздухе рабочей зоны 0,5 мг/м<sup>3</sup>. Класс опасности – второй.

### **3. Погрешность измерений**

Методика обеспечивает выполнение измерений массовых концентраций офлоксацина с погрешностью не более  $\pm 16$  % при доверительной вероятности 0,95.

### **4. Метод измерений**

Измерения массовых концентраций офлоксацина основаны на использовании высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением спектрофотометрического детектора при длине волны 286 нм.

Отбор проб проводится с концентрированием на фильтр.

Нижний предел измерения содержания офлоксацина в хроматографируемом объеме раствора 0,010 мкг.

Нижний предел измерения концентрации офлоксацина в воздухе 0,25 мг/м<sup>3</sup> (при отборе 200 дм<sup>3</sup> воздуха).

Определению не мешают сопутствующие вещества (целлюлоза микрокристаллическая, титана диоксид, поливинилпирролидон низкомолекулярный, магниевый стеариново-кислый, оксипропилцеллюлоза).

### **5. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы**

#### **5.1. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы**

Хроматограф жидкостный микроколоночный «Милихром» со спектрофотометрическим детектором

Хроматографическая колонка стальная КАХ-44-3, 50 × 2 мм, заполненная сорбентом Сепарон С18, фракция 5 мкм	
Пробоотборное устройство, тип ПУ-3Э	ТУ 4215-000-11696625—95
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104—88Е
Фильтродержатель	ТУ 95.72.05—77
Устройство для фильтрации жидкостей НПФ «Биохром»	
Колбы мерные, вместимостью 500, 50 и 25 см <sup>3</sup>	ГОСТ 1770—74Е
Пипетки, вместимостью от 1, 2, 5 и 10 см <sup>3</sup>	ГОСТ 29227—91
Цилиндр мерный со шлифом, вместимостью 100 см <sup>3</sup>	ТУ 25.11.900—73
Бюксы <sup>50</sup> / <sub>30</sub>	ГОСТ 25336—82Е
Пробирки с пришлифованными пробками, вместимостью 10 см <sup>3</sup>	ГОСТ 25336—82Е
Фильтры АФА-ВП-10	ТУ 95-743—80
Фильтры «Владипор» типа ММФК-1Г	ТУ 6-05-221-433—79

### 5.2. Реактивы

Офлоксацин, содержание основного вещества не менее 98,5 %	ВФС 42-3556—99
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 № 1 офлоксацина в растворе элюента концентрацией 500 мкг/см<sup>3</sup> готовится растворением 25 мг вещества в мерной колбе вместимостью 50 см<sup>3</sup>.

9.1.2. Стандартный раствор № 2 офлоксацина в растворе элюента концентрацией 100 мкг/см<sup>3</sup> готовится разбавлением стандартного раствора № 1. Растворы устойчивы в течение месяца при хранении в холодильнике.

9.1.3. Раствор дигидрофосфата калия концентрацией 0,02 М готовят растворением 1,36 г указанной соли в 500 см<sup>3</sup> дистиллированной воды в колбе данного объема.

9.1.4. Раствор элюента готовят смешиванием в мерном цилиндре 90 см<sup>3</sup> 0,02 М раствора дигидрофосфата калия и 10 см<sup>3</sup> ацетонитрила. Раствор доводят до pH 3 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 № 2 согласно

табл. 1. Растворы устойчивы в течение двух недель при хранении в холодильнике.

Условия хроматографирования градуировочных смесей и анализируемых проб:

состав элюента: ацетонитрил–0,02М раствор дигидрофосфата калия 1 : 9, рН 3;

скорость потока элюента 100 мм<sup>3</sup>/мин;

объем вводимой пробы 2 мм<sup>3</sup>;

длина волны спектрофотометрического детектора 286 нм;

время удерживания офлоксацина 5 мин.

Таблица 1

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

№ стандарта	Стандартный раствор офлоксацина № 2, 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	1,0	19,0	5	0,01
3	2,0	18,0	10	0,02
4	3,0	17,0	15	0,03
5	5,0	15,0	25	0,05
6	10,0	10,0	50	0,1
7	20,0	0	100	0,2

Растворы помещают в пробоотборное устройство хроматографа.

На полученной хроматограмме измеряют площади 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 раствора (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 ½ ПДК офлоксацина достаточно отобрать 200 дм<sup>3</sup> воздуха. Пробы можно хранить в течение трех суток.

### 10. Выполнение измерения

Фильтр с отобранной пробой помещают в бюкс с пришлифованной крышкой и приливают пипеткой 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 экстракции с фильтра 92 %. 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 офлоксацина ( $C$ , мг/м<sup>3</sup>) в воздухе вычисляют по формуле:

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

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

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

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

$V$  – объем воздуха, отобранный для анализа и приведенный 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,  $\Delta = 0,16C + 0,02$ .

### 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 офлоксацина

Диапазон определяемых концентраций офлоксацина, 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 0,25 до 5,0	0,02 + 0,16C	0,03 + 0,17C	0,07 + 0,05C

### 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, наборы 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. Внутренний оперативный контроль воспроизводимости проводят не реже, чем 1 раз в неделю.

### 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. 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 4 ч.

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