

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

**Спектрофотометрическое измерение  
массовых концентраций аллохола (по сумме  
желчных кислот) в воздухе рабочей зоны**

**Методические указания  
МУК 4.1.1615—03**

---

**1. Область применения**

Настоящие методические указания устанавливают количественный спектрофотометрический анализ воздуха рабочей зоны на содержание суммы желчных кислот в диапазоне концентраций 0,05—0,50 мг/м<sup>3</sup>.

**2. Характеристика вещества**

**2.1. Физико-химические свойства.**

В состав лекарственного препарата аллохол входят желчь сухая бычья (38 %), чеснок сушеный (19 %), листья крапивы (2,4 %), уголь активированный (11,9 %) и вспомогательные вещества (28,7 %). В желчи содержатся различные желчные кислоты – монокарбоновые гидроксикислоты, относящиеся к классу стероидов, кристаллы с температурами плавления от 140 до 250 °С. В желчи быка присутствуют в основном холевая ( $T_{пл.}$  199 °С) и дезоксихолевая ( $T_{пл.}$  177 °С) кислоты в виде щелочных солей конъюгатов указанных кислот с таурином или глицином, при этом массовая доля холевых кислот составляет не менее 30 %.

Желчные кислоты плохо растворимы в воде, растворимы в этиловом спирте.

Агрегатное состояние в воздухе – аэрозоль.

**2.2. Токсикологическая характеристика.**

Препарат аллохол обладает общетоксическим и гепатотропным действием.

Предельно допустимая концентрация препарата аллохола в воздухе рабочей зоны (по сумме массовых концентраций желчных кислот) – 0,1 мг/м<sup>3</sup>.

### 3. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений массовых концентраций суммы желчных кислот в воздухе с погрешностью, не превышающей ± 15 % при доверительной вероятности 0,95.

### 4. Метод измерений

Измерение массовых концентраций желчных кислот (по холевой кислоте) выполняется методом спектрофотометрии. Метод основан на взаимодействии кислот с сахарозой с образованием окрашенного в желтый цвет продукта реакции. Измерение проводят при длине волны 575 нм.

Отбор проб проводят с концентрированием на фильтр.

Нижний предел измерения содержания желчных кислот в анализируемой пробе 20 мкг.

Нижний предел измерения концентрации желчных кислот в воздухе (при отборе 1 000 дм<sup>3</sup> воздуха) 0,05 мг/м<sup>3</sup>.

Определению не мешают крахмал, тальк, магния карбонат, титана диоксид, тропеолин.

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

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

Спектрофотометр СФ-46	
Пробоотборное устройство ПУ-3Э	ТУ 4215-11696625—95
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104—88Е
Меры массы Г-2-2106 2 кл	ГОСТ 7328—82Е
Фильтр АФА-ВП-10	ТУ 95-743—80
Колбы мерные, вместимостью 50, 100 и 500 см <sup>3</sup>	ГОСТ 1770—74Е
Цилиндр мерный, вместимостью 500 см <sup>3</sup>	ГОСТ 1770—74Е
Пипетки, вместимостью 1, 2, 5 и 10 см <sup>3</sup>	ГОСТ 29227—91
Бюксы 50/30	ГОСТ 25336—82Е
Пробирки с пришлифованными пробками, вместимостью 10 см <sup>3</sup>	ГОСТ 25336—82Е
Кюветы с толщиной оптического слоя 50 мм	
Стаканчики для взвешивания	ГОСТ 25336—82Е
Баня водяная	ТУ 64-1-2850—76

МУК 4.1.1615—03

Термометр  
Холодильник бытовой

ГОСТ 215—73  
ГОСТ 16317—87

### 5.2. Реактивы

Холевая кислота, содержание основного вещества 98 %	ТУ 6-09-10-1585—83
Серная кислота концентрированная, плотность 1,84 г/см <sup>3</sup>	ГОСТ 4204—77
Спирт этиловый, хч	ГОСТ 5963—67
Сахароза	ГОСТ 5833—75
Кислота уксусная ледяная	ГОСТ 61—75
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 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 соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкцией по эксплуатации прибора.

6.4. Работа на спектрофотометре должна проводиться в чистом помещении, свободном от пыли, паров кислот и щелочей. Вблизи спектрофотометра не должны располагаться громоздкие изделия, создающие неудобства в работе оператора.

6.5. В процессе работы необходимо соблюдать правила техники безопасности при работе с химической посудой.

## 7. Требования к квалификации операторов

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

## 8. Условия измерений

8.1. Процессы приготовления растворов и подготовки 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. 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 стандартного раствора кислоты холевой концентрацией 100 мкг/см<sup>3</sup>. Навеску 10 мг кислоты холевой растворяют в нескольких см<sup>3</sup> спирта этилового в мерной колбе вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят объем раствора спиртом до метки. Срок годности раствора — 10 суток при хранении в холодильнике.

9.1.2. Приготовление раствора сахарозы концентрацией 10 мг/см<sup>3</sup>. Растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 см<sup>3</sup> 1 г сахарозы и доводят объем раствора водой до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

9.1.3. Приготовление 8 М раствора кислоты серной. В колбе вместимостью 500 см<sup>3</sup> к 200 см<sup>3</sup> дистиллированной воды осторожно, при постоянном перемешивании, прибавляют 213 см<sup>3</sup> кислоты серной концентрированной и доводят водой до метки. Срок годности раствора — 1 месяц при хранении в комнатных условиях.

### ***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 раствора от массы вещества в анализируемой пробе, устанавливают по методу абсолютной градуировки с использованием серии градуировочных растворов согласно табл. 1, которые готовят путем соответствующего разбавления стандартного раствора кислоты холевой этиловым спиртом с помощью пипеток в пробирках с притертыми пробками. Растворы можно хранить при комнатной температуре в течение 7 ч, в холодильнике — в течение недели.

Для получения градуировочной зависимости по 2 см<sup>3</sup> каждого градуировочного раствора переносят в колбу на 50 см<sup>3</sup> с притертой пробкой, прибавляют 0,8 см<sup>3</sup> раствора сахарозы, пробирку с раствором ставят в стакан со смесью воды со льдом, прибавляют 10 см<sup>3</sup> 8 М раствора кислоты серной и тщательно перемешивают. Пробирку с раствором по-

мещают в водяную баню при 60 °С на 20 мин, после чего сразу же охлаждают в стакане со смесью воды со льдом, прибавляют 10 см<sup>3</sup> кислоты уксусной ледяной и измеряют оптическую плотность на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 575 нм в кювете с толщиной слоя 50 мм. В качестве раствора сравнения используют градуировочный раствор № 1.

Проводят по 5 параллельных определений для каждого из 6 растворов и строят градуировочную зависимость величины оптической плотности от количества вещества в анализируемой пробе.

Проверку градуировочного графика проводят 1 раз в 3 месяца или в случае смены партии реактивов, оборудования или приборов.

Таблица 1

**Растворы для установления градуировочной характеристики при измерении массовых концентраций желчных кислот**

№ стандарта	Стандартный раствор холевой кислоты, см <sup>3</sup>	Спирт этиловый, см <sup>3</sup>	Концентрация вещества, мкг/см <sup>3</sup>	Содержание вещества в анализируемом объеме раствора, мкг
1	0	10	0	0
2	1,0	9,0	10	20
3	2,0	8,0	20	40
4	3,0	7,0	30	60
5	5,0	5,0	50	100
6	7,5	2,5	75	150
7	10	0	100	200

#### 9.4. Отбор проб воздуха

Воздух с объемным расходом 40 дм<sup>3</sup>/мин аспирируют через фильтр АФА-ВП-10, помещенный в фильтродержатель. Для определения ½ ПДК аллохола следует отобрать 1 000 дм<sup>3</sup> воздуха. Пробы можно хранить в течение недели.

### 10. Выполнение измерения

Фильтр с отобранной пробой помещают в бюкс с шлифованной крышкой и приливают пипеткой 5 см<sup>3</sup> этилового спирта. Периодически встряхивая, выдерживают раствор в течение 5 мин и сливают в пробирку. Степень экстракции с фильтра 95 %. Отбирают пипеткой 2 см<sup>3</sup> экстракта и проводят фотометрические реакции аналогично тому, как и при построении градуировочного графика. Количественное определение содержания суммы свободных желчных кислот в растворе проводят по

предварительно построенному градуировочному графику, полученному с помощью растворов хлорной кислоты по отношению к раствору сравнения, используя чистый фильтр.

### 11. Расчет концентрации вещества

Концентрацию суммы желчных кислот в воздухе ( $C$ , мг/м<sup>3</sup>) вычисляют по формуле:

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

$a$  – содержание желчных кислот в объеме пробы, взятой для анализа, мкг;

$b$  – общий объем экстракта с фильтра, см<sup>3</sup>;

$b$  – объем пробы, взятой для анализа, 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,  $\Delta = 0,005 + 0,15C$ .

### 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 желчных кислот, 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 0,05 до 0,5	0,005 + 0,15C	0,007 + 0,16C	0,015 + 0,02C

#### 13.1. Оперативный контроль воспроизводимости

Оперативный контроль воспроизводимости выполняют в одной серии с анализом рабочих проб. Проводят отбор двух воздушных проб с использованием двух пробоотборников одновременно. Анализируют в

соответствии с прописью методики, привлекая различных исполнителей и максимально варьируя условия проведения анализа: партии реактивов, наборы мерной посуды и т. д., и получают два результата  $C_1$  и  $C_2$  анализов. Решение об удовлетворительной воспроизводимости принимают при выполнении условия:

$$|C_1 - C_2| \leq D, \text{ где}$$

$D$  – норматив оперативного контроля воспроизводимости. При превышении расхождения между двумя результатами анализа 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 месяц.

### **13.2. Оперативный контроль точности**

Оперативный контроль точности выполняют в одной серии с анализом рабочих проб. Проводят отбор двух воздушных проб с использованием двух пробоотборников одновременно, затем к одной пробе делают добавку анализируемого компонента  $\delta C$ , нанося на фильтр дозу раствора, содержащего анализируемый компонент. 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, с одним набором посуды и т. д.

Погрешность процедуры отбора проб контролируют путем проверки используемых пробоотборников. Решение об удовлетворительной погрешности принимают при выполнении условия:

$$|C_2 - C_1 - \delta C| \leq K, \text{ где}$$

$K$  – норматив оперативного контроля точности.

## **14. Нормы затрат времени на анализ**

Для проведения серии анализов из 6 проб при последовательном отборе проб воздуха требуется 6 ч.

Методические указания разработаны Российским государственным медицинским университетом (лаборатория токсикологии и экологии, Е. Б. Гугля).