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

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

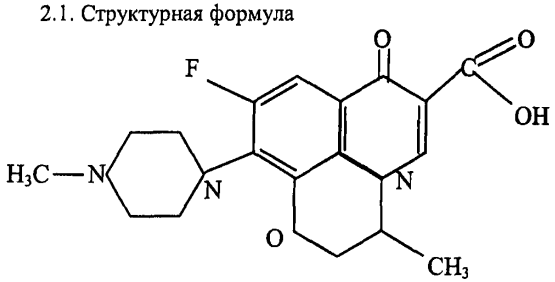
Методические указания МУК 4.1.1626—03

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^3.

2. Характеристика вещества

2.1. Структурная формула



gost.e-ecolog.ru

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^3. Класс опасности – второй.

3. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений массовых концентраций офлоксацина с погрешностью не более ± 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^3 (при отборе 200 дм^3 воздуха).

Определению не мешают сопутствующие вещества (целлюлоза микрокристаллическая, титана диоксид, поливинилпирролидон низкомолекулярный, магний 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 $см^3$	ГОСТ 1770—74Е
Пипетки, вместимостью от 1, 2, 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Цилиндр мерный со шлифом, вместимостью 100 $см^3$	ТУ 25.11.900—73
Бюксы $^{50}/_{30}$	ГОСТ 25336—82Е
Пробирки с пришлифованными пробками, вместимостью 10 $см^3$	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 ± 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^3 готовится растворением 25 мг вещества в мерной колбе вместимостью 50 см^3.

9.1.2. Стандартный раствор № 2 офлоксацина в растворе элюента концентрацией 100 мкг/см^3 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^3 дистиллированной воды в колбе данного объема.

9.1.4. Раствор элюента готовят смешиванием в мерном цилиндре 90 см^3 0,02 М раствора дигидрофосфата калия и 10 см^3 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, pH 3;

скорость потока элюента 100 мм^3/мин;

объем вводимой пробы 2 мм^3;

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^3	Раствор элюента, см^3	Концентрация вещества, мкг/см^3	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^3/мин аспирируют через фильтр АФА ВП-10. Для измерения ½ ПДК офлоксацина достаточно отобрать 200 дм^3 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^3 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^3) в воздухе вычисляют по формуле:

$$C = \frac{а \cdot в}{б \cdot V}, \text{ где}$$

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

$б$ – объем пробы, взятый для хроматографирования, см^3;

$в$ – общий объем раствора пробы, см^3;

V – объем воздуха, отобранный для анализа и приведенный к стандартным условиям, дм^3 (см. прилож. 1).

12. Оформление результатов анализа

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

$$| C_1 - C_2 | \le D$$

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 δC 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 поверки 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:

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

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).

gost.e-ecolog.ru