

## 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 (2S,5R,6R)-6-[[ (R)-  
амино-(4-гидроксифенил)ацетил]амино]-3,3-диметил-7-  
оксо-4-тиа-1-азабицикло[3.2.0]гептан-2-карбоновой  
кислоты тригидрата (амоксициллина тригидрата)  
в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной  
жидкостной хроматографии**

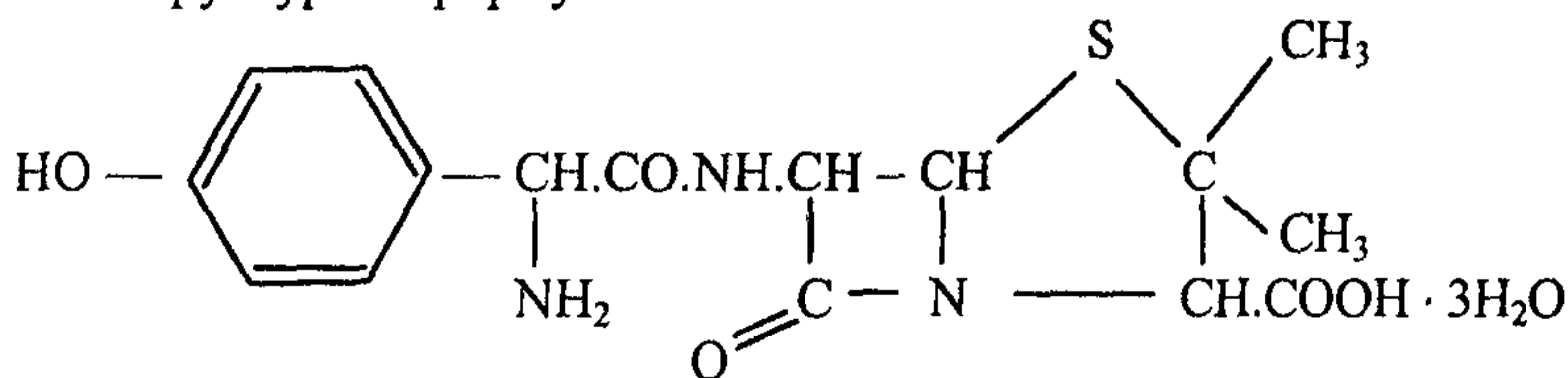
**Методические указания  
МУК 4.1.1616—03**

**1. Область применения**

Настоящие методические указания устанавливают количественный хроматографический анализ воздуха рабочей зоны на содержание (2S,5R,6R)-6-[[ (R)-амино-(4-гидроксифенил)ацетил]амино]-3,3-диметил-7-оксо-4-тиа-1-азабицикло-[3.2.0]гептан-2-карбоновой кислоты тригидрата (амоксициллина тригидрата) в диапазоне концентраций от 0,05 до 1 мг/м<sup>3</sup>

**2. Характеристика вещества**

## 2.1. Структурная формула

2.2. Эмпирическая формула C<sub>16</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S.

2.3. Молекулярная масса 419,4.

2.4. Регистрационный номер CAS 61336-70-7.

### 2.5. Физико-химические свойства.

Амоксициллина тригидрат – антибиотик широкого спектра действия из группы полусинтетических пенициллинов, кристаллический порошок белого цвета,  $T_{пл}$  160—180 °С, малорастворим в воде и этиловом спирте, практически не растворим в эфире и жировых маслах, растворим в разбавленных кислотах и разбавленных гидроксидах щелочных металлов, растворим в смеси ацетонитрила и воды при рН 5 (элюенте).

Агрегатное состояние в воздухе – аэрозоль.

### 2.6. Токсикологическая характеристика.

Амоксициллина тригидрат обладает антимикробным и слабым аллергенным свойствами.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) в воздухе рабочей зоны 0,1 мг/м<sup>3</sup>. Класс опасности – второй.

## 3. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений массовых концентраций амоксициллина тригидрата с погрешностью не более  $\pm 23\%$  при доверительной вероятности 0,95.

## 4. Метод измерений

Измерения массовых концентраций амоксициллина тригидрата основаны на использовании высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением спектрофотометрического детектора.

Отбор проб проводится с концентрированием на фильтр.

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

Нижний предел измерения концентрации амоксициллина тригидрата в воздухе 0,05 мг/м<sup>3</sup> (при отборе 400 дм<sup>3</sup> воздуха).

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

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

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

Хроматограф жидкостный микроколоночный «Милихром» со спектрофотометрическим детектором при длине волны 254 нм

Хроматографическая колонка стальная

КАХ-44-3, 50 × 2 мм, заполненная сорбентом

Сепарон С18, фракция 5 мкм

Весы аналитические ВЛА-200

ГОСТ 24104—88Е

Пробоотборное устройство ПУ-3Э	ТУ 4215-000-11696625—95
Фильтродержатель	ТУ 95.72.05—77
Устройство для фильтрации жидкостей НПФ «Биохром»	
Колбы мерные, вместимостью 50, 100 и 500 см <sup>3</sup>	ГОСТ 1770—74Е
Цилиндры мерные, вместимостью 100 см <sup>3</sup>	ГОСТ 1770—74Е
Пипетки, вместимостью от 1 до 10 см <sup>3</sup>	ГОСТ 29227—91
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

Амоксицилина тригидрат, № регистрации 005523 от 25.11.94, содержание основного вещества не менее 95 и не более 105 % в пересчете на безводное вещество

Ацетонитрил для жидкостной хроматографии

Калий дигидрофосфат, хч

Кислота ортофосфорная, хч

Вода дистиллированная

ТУ 6-09-14-2167—84

ГОСТ 4198—75

ГОСТ 6552—58

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  $(20 \pm 5) ^\circ\text{C}$ , 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 амоксициллина тригидрата в растворе элюента концентрацией  $400 \text{ мкг/см}^3$  готовится растворением 20 мг вещества в мерной колбе вместимостью  $50 \text{ см}^3$ .

9.1.2. Стандартный раствор № 2 амоксициллина тригидрата в растворе элюента концентрацией  $40 \text{ мкг/см}^3$  готовится разбавлением стандартного раствора № 1. Растворы устойчивы в течение месяца при хранении в холодильнике.

9.1.3. Раствор дигидрофосфата калия концентрацией 0,05 М готовят растворением 1,36 г указанной соли в  $200 \text{ см}^3$  дистиллированной воды в колбе данного объема.

9.1.4. Раствор элюента готовят смешением в мерной колбе на  $100 \text{ см}^3$   $95 \text{ см}^3$  0,05 М раствора дигидрофосфата калия и  $5 \text{ см}^3$  ацетонитрила, который прибавляют пипеткой. Раствор доводят до pH 5 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 в пробирках с притертыми пробками согласно табл. 1. Растворы устойчивы в течение недели при хранении в холодильнике.

Условия хроматографирования градуировочных смесей и анализируемых проб:

состав элюента – ацетонитрил–0,05 М дигидрофосфата калия, 5 : 95, pH 5;



скорость потока элюента  $100 \text{ мм}^3/\text{мин}$ ;  
 объем вводимой пробы  $5 \text{ мм}^3$ ;  
 длина волны спектрофотометрического детектора  $254 \text{ нм}$ ;  
 время удерживания амоксициллина тригидрата  $3 \text{ мин}$ .

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 пробы (мкг). Проверку градуировочного графика проводят при изменении условий анализа, но не реже 1 раза в месяц.

Таблица 1

Растворы для установления градуировочной характеристики при определении амоксициллина тригидрата

№ стандарта	Стандартный раствор амоксициллина № 2, $\text{см}^3$	Раствор элюента, $\text{см}^3$	Концентрация вещества, $\text{мкг}/\text{см}^3$	Содержание вещества в хроматографируемом объеме пробы, мкг
1	0	10	0	0
2	0,5	9,5	2	0,01
3	1,0	9,0	4	0,02
4	1,75	8,25	7	0,035
5	2,5	7,5	10	0,05
6	5	5	20	0,1
7	10	0	40	0,2

#### 9.4. Отбор пробы воздуха

Воздух с объемным расходом  $20 \text{ дм}^3/\text{мин}$  аспирируют через фильтр ЛФА ВП-10. Для измерения  $\frac{1}{2}$  ПДК амоксициллина тригидрата достаточно отобрать  $400 \text{ дм}^3$  воздуха. Пробы можно хранить в течение трех суток.

### 10. Выполнение измерения

Фильтр с отобранной пробой помещают в бюкс с пришлифованной крышкой и приливают пипеткой  $5 \text{ см}^3$  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 десорбции с фильтра 94 %. 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 амоксициллина тригидрата ( $C$ , 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, 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,  $\Delta = 0,17C + 0,003$ .

### 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 амоксициллина, 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 1,0	$0,003 + 0,17C$	$0,003 + 0,19C$	$0,007 + 0,10C$

#### 13.2. 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 пробоотборни-

ками 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.

### ***13.3. 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, с 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:

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

## **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).