Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОМ СЫРЬЕ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Сборник методических указаний

МУК 4.1.1994-4.1.2002-05

Издание официальное

Москва, 2009

gost.e-ecolog.ru

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека,
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации,

Г.Г. Онищенко

МУК 4.1. 2002-03

«22» мая 2001 г.

Дата введения: с 1 августа 2003 г.

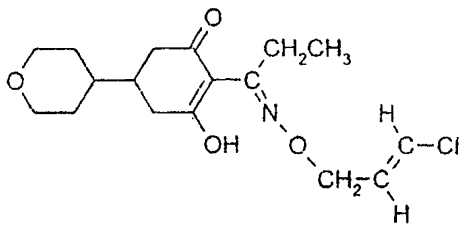
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по измерению концентраций Тепралоксидима в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воздухе рабочей зоны массовой концентрации тепралоксидима в диапазоне 0,1 - 1,0 мг/м^3.

Тепралоксидим - действующее вещество препарата АРАМО 50, КЭ (50 г/л); фирма производитель БАСФ (Германия)

(EZ) -(RS)-3-Гидрокси –5-(пергидропиран-4-ил)- 2-{1-[(2E)-3-хлораллилокси-имино]пропил}циклогек-2-ен-1-он (IUPAC).



$C_{17}H_{24}ClNO_4$

Мол. масса 341.8

Тепралоксидим – белое кристаллическое вещество, без запаха. Температура плавления 72.5-74.4^{0}С. Давление паров при 20^{0}С 0,011 мПа. Растворимость технического продукта в органических растворителях при 20^{0}С (в мг/дм^3): ацетон – 700; гептан – 10; дихлорметан – 1190, метанол – 330; толуол – 820; этилацетат - 690.

Растворимость в воде при 20°С (в г/дм^3): 0,43 (pH 7); 7,25 (pH 9).. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 1,03 (pH 7); 3,5 (pH 2,5). Стабильность в водных растворах при 22°С: 6,6 дней (pH 4); 22,1 дней (pH 5); 33 дня (pH 7 и 9). Константа диссоциации pKa 4,58 (20°С).

Агрегатное состояние в воздухе –аэрозоль.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс 5000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов >2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) > 5100 мг/дм^3 (4 часа).

Область применения препарата

Тепралоксидим – высокоэффективный системный гербицид, рекомендуется для борьбы с однолетними и многолетними злаковыми сорняками в посевах сахарной свеклы и сои.

Ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) тепралоксидима в воздухе рабочей зоны - 1,0 мг/м^3.

1. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений с погрешностью, не превышающей ± 25%, при доверительной вероятности 0,95.

2. Метод измерений

Измерения концентраций тепралоксидима выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с ультрафиолетовым детектором.

Концентрирование тепралоксидима из воздуха осуществляют на бумажные фильтры "синяя лента", экстракцию с фильтров проводят ацетоном.

Нижний предел измерения в анализируемом объеме пробы – 2,0 нг.

Определению не мешают компоненты препаративной формы.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы Perkin-

Номер в Государственном реестре средств измерений

Elmer, США)	15945-97
Барометр-анероид М-67	ТУ 2504-1797-75
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Колбы мерные 2-50-2, 2-100-2 и 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные вместимостью 5 или 10 $см^3$	ГОСТ 1770
Пробоотборное устройство ОП-442ТЦ (ЗАО "ОПТЭК", г. Санкт-Петербург) или аспирационное устройство ЭА-1	ТУ 25-11-1414-78
Термометр лабораторный шкальный ТЛ-2, цена деления 1°С, пределы измерения 0 - 55°С	ТУ 215-73Е
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 10, 500 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Тепралоксидим с содержанием основного вещества 99,8% (фирма БАСФ, Германия)	
Ацетон, о.с.ч.	ТУ-6-09-3513-86
Ацетонитрил для хроматографии, х.ч.	ТУ 6-09-4326-76
Вода бидистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	ГОСТ 6709
Кислота муравьиная, ч, 85%	ГОСТ 5848

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851-78
Баня ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария)	
Бумажные фильтры "синяя лента", обеззоленные	ТУ 6-09-2678-77
Воронки конусные диаметром 30-37 мм	ГОСТ 25336

Груша резиновая	
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 9737
Мембранные фильтры капроновые, диаметром 47 мм	
Насос водоструйный	ГОСТ 10696
Пробирки центрифужные	ГОСТ 25336
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М	ТУ 25-11-917-74
или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария	
Стаканы химические, вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Установка для перегонки растворителей	
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 4,0 мм, содержащая Zorbax ODS, зернением 5 мкм	
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50 – 100 $мм^3$	

Допускается применение хроматографических колонок и другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостной хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно-допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда - по ГОСТ 12.0.004.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на жидкостном хроматографе.

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха $(20\pm5)^0$С и относительной влажности не более 80%.

• выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей, подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, приготовление растворов для градуировки, установление градуировочной характеристики, подготовка фильтров для отбора проб воздуха, отбор проб.

7.1 Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над небольшим количеством KMO_4 и прокаленным карбонатом калия.

7.1.2. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 часа, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 400 $см^3$ бидистиллированной или деионизированной воды, 1.0 $см^3$ муравьиной кислоты, 600 $см^3$ ацетонитрила, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.2) при скорости подачи растворителя 1,0 $см^3$/мин до установления стабильной базовой линии.

7.4. Приготовление градуировочных растворов

7.4.1. Исходный раствор тепралоксидима для градуировки (концентрация 1 $мг/см^3$) В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 0,100 г тепралоксидима, добавляют 50-70 $см^3$ ацетонитрила, растворяют, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 3-х месяцев.

Растворы № 1-5 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора для градуировки.

7.4.2. Раствор № 1 тепралоксидима для градуировки (концентрация 10 $мкг/см^3$) В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 1 $см^3$ исходного градуировочного раствора тепралоксидима с концентрацией 1 $мг/см^3$ (п. 7.4.1.), разбавляют ацетонитрилом до метки, перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

7.4.3. Рабочие растворы № 2 – 6 тепралоксидима для градуировки (концентрация 0.1 – 1.0 $мкг/см^3$)

В 5 мерных колб вместимостью 100 $см^3$ помещают по 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 и 10.0 $см^3$ градуировочного раствора №1 с концентрацией 10 $мкг/см^3$ (п. 7.4.2.), доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2 - 6 с концентрацией тепралоксидима 0.1, 0.2, 0.3, 0.5 и 1.0 $мкг/см^3$, соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике в течение 2-х недель.

7.5. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (относительные единицы) от концентрации тепралоксидима в растворе ($мкг/см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 5-и растворам для градуировки №№ 2 - 6.

В инжектор хроматографа вводят по 20 $мм^3$ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 7.5.1. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Устанавливают площадь пика действующего вещества.

Градуировочный график проверяют ежедневно по анализу 2-х растворов для градуировки различной концентрации. Если значения площадей отличаются более,

чем на 6% от данных, заложенных в градуировочную характеристику, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие растворы для градуировки.

7.5.1. Условия хроматографирования

Измерения выполняют при следующих режимных параметрах:

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором (фирма Perkin Elmer, США)

Колонка стальная длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,0 мм, содержащая Zorbax ODS, зернением 5 мкм

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: ацетонитрил – вода - муравьиная кислота (60:40:0,1, по объему)

Скорость потока элюента: 1,0 $см^3$/мин

Рабочая длина волны: 260 нм

Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$

Ориентировочное время выхода тепралоксидима: 6,8-7,1 мин.

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор тепралоксидима с концентрацией 1.0 мкг/$см^3$, разбавляют ацетонитрилом.

7.6. Подготовка фильтров для отбора проб воздуха

Бумажные фильтры «синяя лента» последовательно промывают этанолом и ацетоном порциями 25-30 $см^3$, сушат на воздухе при комнатной температуре. До использования фильтры хранят в герметично закрытой стеклянной таре.

7.7. Отбор проб

Отбор проб проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 "ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны". Воздух со скоростью 1 - 3 $дм^3$/мин аспирируют через бумажный фильтр "синяя лента", помещенный в фильтродержатель.

Для измерения концентрации тепралоксидима на уровне 0,5 ОБУВ для воздуха рабочей зоны необходимо отобрать 1,0 $дм^3$ воздуха. Срок хранения отобранных проб, помещенных в полиэтиленовые пакеты, в холодильнике при температуре не выше +4^{0}С - 14 дней.

8. Выполнение измерений

Экспонированные фильтры «синяя лента» переносят в химический стакан вместимостью 100 $см^3$, заливают 10 $см^3$ ацетона, выдерживают 10 минут, периодически встряхивая. Растворитель сливают, фильтр еще дважды обрабатывают новыми порциями ацетона объемом 10 $см^3$, выдерживая по 10 минут.

Объединенный экстракт упаривают в грушевидной колбе на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40^0С почти досуха, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха. Остаток растворяют в 5 $см^3$ ацетонитрила и анализируют при условиях хроматографирования, указанных в п. 7.5.1.

Пробу вводят в инжектор хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площадь пика, с помощью градуировочного графика определяют концентрацию тепралоксидима в хроматографируемом растворе.

Перед анализом опытной пробы проводят хроматографирование холостой (контрольной) пробы - экстракта неэкспонированных фильтров.

9. Обработка результатов анализа

Массовую концентрацию тепралоксидима в пробе воздуха X, $мг/м^3$, рассчитывают по формуле:

$X = C * W/V_{20}$, где

C - концентрация тепралоксидима в хроматографируемом растворе, найденная по градуировочному графику в соответствии с величиной площади хроматографического пика, $мкг/см^3$;

W - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, $см^3$;

V_{20} - объем пробы воздуха, отобранный для анализа, приведенный к стандартным (давление 760 мм рт. ст., температура 20° С) условиям, $дм^3$.

$$V_{20}= 0,386 *P* ut/(273+T),$$

где T - температура воздуха при отборе пробы (на входе в аспиратор), град.С,

P - атмосферное давление при отборе пробы, мм рт. ст.

u - расход воздуха при отборе пробы, $дм^3/мин$,

t - длительность отбора пробы, мин.

Примечание: Идентификация и расчет концентрации тепралоксидима в пробах могут быть проведены с помощью программ обработки хроматографических данных с применением компьютера, включенного в аналитическую систему.

10. Оформление результатов измерений

За результат анализа ($\overline{X}$) принимается среднее арифметическое результатов двух параллельных определений X_1 и X_2 ($\overline{X} = (X_1 + X_2)/2$), расхождение между которыми не превышает значений норматива оперативного контроля сходимости (d): $|X_1 - X_2| \leq d$.

$$d = d_{отн.} * \overline{X}/100, \text{ мг/м}^3,$$

где d -норматив оперативного контроля сходимости, мг/м^3;

$d_{отн}$ -норматив оперативного контроля сходимости, % (равен 10%).

Результат количественного анализа представляют в виде:

• результат анализа $\overline{X}$ (мг/м^3), характеристика погрешности δ, % (равна 25%), P = 0.95 или

• $\overline{X} \pm \Delta$ мг/м^3, P = 0,95, где Δ - абсолютная погрешность.

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \overline{X}}{100}, \text{ мг/м}^3$$

Результат измерений должен иметь тот же десятичный разряд, что и погрешность.

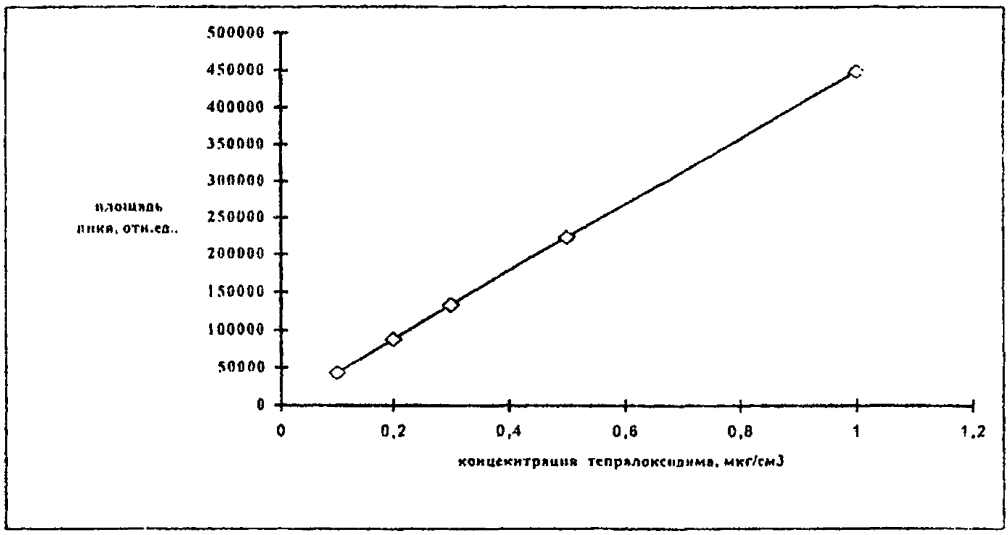
11. Контроль погрешности измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-1-6. 2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

12. Разработчики

Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Волкова В.Н. (Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана, г. Мытищи Московской обл.);

Рис.1. **График зависимости площади хроматографического пика от содержания тепралоксидима в растворе**



$$S = -1442,0 + 449666 \times C \quad (r = 0,9989),$$

где S - площадь хроматографического пика тепралоксидима, отн. ед.;

C - концентрация тепралоксидима в растворе, мкг/см^3;

r - коэффициент корреляции.

Жидкостной хроматограф "Perkin-Elmer" (США) с ультрафиолетовым детектором (рабочая длина волны 260 нм), колонка (25 см х 4 мм), содержащая Zorbax ODS (5 мкм), подвижная фаза: ацетонитрил - вода – муравьиная кислота (60:40:0.1, по объему), чувствительность 0,005 ед. оптической плотности на шкалу, объем вводимой пробы 20 мм^3.

gost.e-ecolog.ru