Государственное санитарно эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. Методы контроля. Химические факторы

Измерение массовых концентраций аверсектина С (смесь изомеров) в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.1326 – 03

Издание официальное

Минздрав России
Москва 2004

gost.e-ecolog.ru

4.1. Методы контроля. Химические факторы

Измерение массовых концентраций аверсектина С (смесь изомеров) в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.1326 – 03

1. Подготовлены НИИ медицины труда РАМН (Макеева Л.Г., Муравьева Г.В.)
2. Разработаны ООО НБЦ "Фармбиомед" (В.Т. Тер-Симонян, Е.Б.Кругляк), Российским государственным медицинским университетом (Е.Б.Гугля).
3. Рассмотрены на совместном заседании группы Главного эксперта Комиссии по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию по проблеме " Лабораторно-инструментальное дело и метрологическое обеспечение" и методбюро подсекции "Промышленно-санитарная химия" Проблемной комиссии "Научные основы гигиены труда и профпатологии".
4. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Министерстве Здравоохранения Российской Федерации. (Протокол № 18 от 27 марта 2003 года).
5. Утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации 16 мая 2003 года.
6. Введены впервые.

Содержание Стр.

1.Общие положения и область применения	4
2. Характеристика вещества	4-5
3. Погрешность измерений	6
4. Метод измерений	6
5. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы	6
5.1.Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы	6
5.2.Реактивы	7
6.Требования безопасности	7
7.Требования к квалификации оператора	7
8.Условия измерений	7
9.Подготовка к выполнению измерений	7
9.1. Приготовление растворов	7
9.2.Подготовка прибора	8
9.3.Установление градуировочной характеристики	8
9.4. Отбор проб воздуха	9
10.Выполнение измерений	9
11.Вычисление результатов измерений	9
12. Оформление результатов анализа	10
13. Контроль погрешности измерений	10
13.1.Оперативный контроль воспроизводимости	10
13.2.Оперативный контроль точности	10
14. Нормы затрат времени на анализ	11

УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный
санитарный врач Российской Федерации
Первый заместитель Министра здравоохранения
Российской Федерации

_____ Г. Г Онищенко
_____ 2003 г.

Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение массовых концентраций аверсектина С (смеси изомеров) в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии
Методические указания

МУК 4.1 1326 - 03

1. Общие положения и область применения

Настоящие методические указания устанавливают количественный хроматографический анализ воздуха рабочей зоны на содержание аверсектина С в диапазоне массовых концентраций от 0,025 до 0,5 мг/м^3.

Методические указания разработаны и подготовлены в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 ССБТ "Воздух рабочей зоны. Общие санитарно-гигиенические требования", ГОСТ Р 8.563-96 " Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений", МИ 2335-95 "Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа", МИ 2336-95 "Характеристика погрешности результатов количественного химического анализа. Алгоритмы оценивания".

Методические указания предназначены для санитарных лабораторий промышленных предприятий, организаций и учреждений, где возможен контакт работающих с аверсектином С и других лабораторий, аккредитованных в установленном порядке на право проведения таких исследований.

2. Характеристика вещества

2.1. Структурная формула

Аверсектин С представляет собой смесь восьми близких в химическом отношении природных 16-членных макроциклических лактонов, продуктов жизнедеятельности культуры Streptomycis avermitilis (табл.1). Компоненты A_1 и B_1 имеют двойную связь в положении 22-23 (см. рисунок), у компонентов A_2 и B_2 эта связь восстановлена. Основные компоненты - авермектины B_1 и B_2, причем содержание компонента B_{1a} (10E,14T,16E,2Z)-(1R,4S,S',6S,6'R,8R,12S,20R,21R,24S)-6'-[(S)]-sec-бутил]-21,24-гидрокси-S',11,13,22-тетраметил-2-оксо-3,7,19-триоксатетрацикло=[16,61]-4,8O,22,24-пентакоза-0,14,16,22-тетраен-6-спиро-2'(5',6'-дигидро-2H-пиран)-12-ил-2,6-дидеокси-4-2-(2,60-дидеокси-3-0-метил-α-1-арабино=гексапиранозил)-3=0-метил-α-арабиногекса-пиранозида) в смеси составляет не менее 40 %.

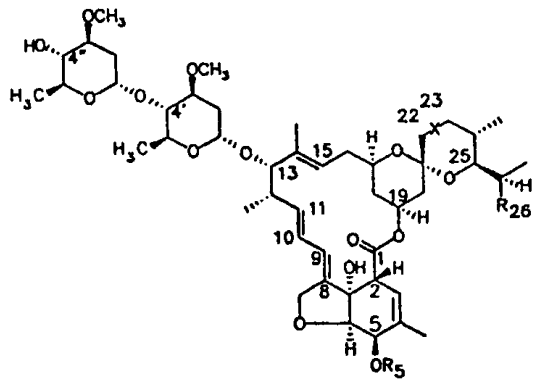

Таблица 1. Характеристика авермектинов.

Тип авермектина	Эмпирическая формула	Регистрационные номера по CAS	Молекулярная масса	Заместители	
				R_5	R_{26}
A_{1a}	$C_{49}H_{74}O_{14}$		886	OCH_3	C_2H_5
A_{2a}	$C_{48}H_{76}O_{15}$		904	OCH_3	C_2H_5
B_{1a}	$C_{48}H_{72}O_{14}$	65195-55-3	872	OH	C_2H_5
B_{2a}	$C_{48}H_{74}O_{15}$	65195-56-4	890	OH	C_2H_5
A_{1b}	$C_{49}H_{72}O_{14}$		872	OCH_3	CH_3
A_{2b}	$C_{49}H_{74}O_{15}$		890	OCH_3	CH_3
B_{1b}	$C_{47}H_{70}O_{14}$	65195-57-5	858	OH	CH_3
B_{2b}	$C_{47}H_{70}O_{15}$	65195-58-6	876	OH	CH_3

2.5. Физико-химические свойства.

Аверсектин С - порошок белого или желтовато-белого цвета, легко растворим в хлорированных углеводородах, ацетоне, бензоле, растворим в низших спиртах, практически нерастворим в воде, петролейном эфире. Температуры плавления авермектинов (с разложением) составляют около 150°С.

Агрегатное состояние в воздухе - аэрозоль.

2.6. Токсикологическая характеристика

Аверсектин С - противопаразитарный препарат, обладает нервно-паралитическим действием.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) аверсектина С в воздухе 0,05 мг/м^3. Класс опасности - первый.

3. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений массовых концентраций аверсектина С с погрешностью не более ± 24% при доверительной вероятности 0,95.

4. Метод измерений

Измерение массовых концентраций аверсектина С основано на получении флуоресцирующих производных авермектинов путем их дериватизации 1-метилимидазолом и трифторуксусным ангидридом. Последующее количественное определение авермектина B_{1a}, одного из компонентов аверсектина С, проводят методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением флуоресцентного детектора при длинах волн возбуждения и испускания 365 и 470 нм соответственно.

Отбор проб проводится с концентрированием на фильтр.

Нижний предел измерения содержания авермектина B_{1a} в хроматографируемом объеме раствора 0,004 мкг.

Нижний предел измерения концентрации аверсектина С в воздухе 0,025 мг/м^3 (при отборе 140 дм^3 воздуха).

Определению не мешают другие авермектины.

5. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы

5.1. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы.

5.1.1. Хроматограф жидкостной Du Pont 8800 (США) с флуоресцентным детектором

5.1.2. Колонка хроматографическая стальная длиной 250 мм и внутренним диаметром 4 мм, заполненная сорбентом Диасорб-130-С16Т с размером частиц 5 мкм (фирма БиоХимМак, Россия)

5.1.3. Аспирационное устройство ПУ-3Э, ТУ 4215-000-11696625-95

5.1.4. Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 24104-88Е

5.1.5. Меры массы, ГОСТ 7328—82 Е

5.1.6. Фильтродержатель, ТУ 95.72.05-77

5.1.7. Набор для фильтрации жидкостей, производство НПФ «Биохром»

5.1.8. Колбы мерные вместимостью 25 и 100 см^3, ГОСТ 1770-74Е

5.1.9. Пипетки вместимостью от 1, 2, 5 и 10 см^3, ГОСТ 29227-91

5.1.10. Цилиндр мерный со шлифом вместимостью 100 см^3, ГОСТ 1770-74Е

5.1.11. Бюксы 50/30, ГОСТ 25336-82Е

5.1.12. Пробирки с пришлифованными пробками вместимостью 10 см^3, ГОСТ 25336-82Е

5.1.13. Воронка фильтровальная ВФ-20/16, ГОСТ 25336-82

5.1.14. Центрифуга низкоскоростная ЦЛС-3, ТУ 5-375-4170-73

5.1.15. Центрифужные пробирки стеклянные вместимостью 5 см^3 с полиэтиленовыми пробками

5.1.16. Ультразвуковой диспергатор УЗДН-А, ТУ 25-7401.0127-88

5.1.17. Холодильник бытовой, ГОСТ 16317-87

5.1.18. Вакуумный испаритель ротационный ИР-1М, ТУ 25-11-917-76
5.1.19. Фильтры АФА-ВП-10, ТУ 95-743-80
5.2. Реактивы
5.2.1. Авермектин B_1 РСО 9340-201-00-494189-99, содержание авермектина B_{1a} 88,88 %
5.2.2. Аверсектин С, ТУ 9383-009-17266133-97, содержание авермектина B_{1a} не менее 40 %
5.2.3. Ацетонитрил «для жидкостной хроматографии», ТУ-6-09-14-2167-84
5.2.4. Спирт этиловый, х.ч., ТУ 6-0951710-72
5.2.5. 1-Метилимидазол импортный, фирма Мерк
5.2.6. Трифторуксусный ангидрид импортный, фирма Мерк
5.2.7. Спирт метиловый, х.ч., ГОСТ 6995-77
5.2.8. Вода дистиллированная, ГОСТ 6709-72
5.3. Допускается применение иных средств измерения, вспомогательных устройств, реактивов и материалов, обеспечивающих показатели точности, установленные для данной МВИ.

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 допускают лиц с высшим и средним специальным образованием, имеющих 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 авермектина B_{1a} для градуировки с концентрацией 88,8 мкг/см^3 готовят путем растворения точной навески 10 мг авермектина B_1 в этиловом спирте в мерных колбе объемом 100 см^3. Раствор хранят не более 2-х месяцев в холодильнике.

9.1.2. Стандартный раствор № 2 авермектина B_1 с концентрацией авермектина B_{1a} 3,52 мкг/см^3 готовят путем разведения 4 см^3 стандартного раствора № 1 в мерной колбе на 100 см^3 этиловым спиртом. Раствор хранят не более 2-х недель в холодильнике.

9.1.3. Раствор элюента готовят смешиванием в мерном цилиндре 98 см^3 метилового спирта и 2 см^3 дистиллированной воды. Непосредственно перед измерением раствор фильтруют с помощью набора для фильтрации.
9.1.4. Реакционную смесь готовят из трифторуксусного ангидрида и ацетонитрила в соотношении 1:2 и помещают ее в холодильник при 0°С (смесь готовят в день работы и не хранят).

9.2. Подготовка прибора

Общую подготовку прибора осуществляют согласно инструкции по эксплуатации.

9.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика авермектина B_{1a} (в условных единицах) от количества массы (мкг) авермектина B_{1a} в хроматографируемом объеме пробы, устанавливают по методу абсолютной градуировки с использованием градуировочных растворов, которые готовят согласно табл.2.
Градуировочные растворы устойчивы в течение недели при хранении в холодильнике.

Таблица 2

Растворы для установления градуировочной характеристики при определении концентрации авермектина B_{1a}

№	Стандартный раствор № 2 авермектина B_{1a}, см^3	Этиловый спирт, см^3	Концентрация вещества, мкг/см^3	Содержание вещества в хроматографируемом объеме пробы, мкг
1	0	25	0	0
2	1,0	24,5	0,141	0,0040
3	1,5	23,5	0,211	0,0060
4	2,5	22,5	0,352	0,0102
5	5,0	20,0	0,704	0,0201
6	10,0	15,0	1,408	0,0404
7	20,0	5,0	2,816	0,0804

Для построения градуировочного графика отбирают по 2,0 см^3 каждого градуировочного раствора, помещают в центрифужные пробирки и упаривают досуха на вакуумном испарителе. В каждую пробирку с сухим остатком вносят по 0,5 см^3 ацетонитрила, пробирку энергично встряхивают и обрабатывают ультразвуком в течение 30 с. Затем пробирку повторно встряхивают и повторно обрабатывают ультразвуком. В каждую пробирку вносят по 0,05 см^3 1-метилимидазола. Пробирку закрывают, тщательно перемешивают содержимое в течение 5-10 с, обрабатывают ультразвуком, центрифугируют и помещают в холодильник при 0°С на 10 минут. После охлаждения в пробирку с образцом вносят 0,15 см^3 охлажденной реакционной смеси. Пробирку закрывают и выдерживают в холодильнике в течение 1 часа. Общий объем раствора пробы после проведения реакции - 0,7 см^3.
Растворы помещают в пробоотборное устройство хроматографа. Условия хроматографирования градуировочных смесей и анализируемых проб:
состав элюента метиловый спирт : дистиллированная вода, 98:2
скорость потока элюента 2,0 см^3/мин

объем вводимой пробы		10 мм^3
длины волн флуоресцентного детектора		365/470 нм
Время удерживания авермектина	B_{1a}	9,7 мин
	B_{1a}	12,2 мин

На полученной хроматограмме измеряют площадь пика с помощью интегратора хроматографа (в условных единицах) при анализе 6-и растворов разных концентраций и растворителя, проводя не менее 5-и параллельных определений для каждого раствора, и строят градуировочную кривую зависимости площади пика авермектина B_{1a} от количества компонента в пробе (в мкг).

Проверку градуировочного графика проводят при изменении условий анализа, но не реже 1 раза в неделю.

9.4. Отбор проб воздуха

Воздух с объемным расходом 20 дм^3/мин аспирируют через фильтр АФА ВП-20. Для измерения ½ ПДК достаточно отобрать 140 дм^3. Пробы можно хранить не более десяти суток в защищенном от света месте.

Отбор проб сопровождается составлением акта отбора, с указанием, при какой температуре и давлении он проводился.

10. Выполнение измерений

Фильтр с отобранной пробой помещают в бюкс и приливают пипеткой 10 см^3 раствора этанола. Периодически встряхивая, выдерживают раствор в течение 10 мин. Экстракт фильтруют через воронку с пористой пластинкой №1 или № 2 и сливают в пробирку с притертой пробкой. Степень экстракции с фильтра 93 %. Отбирают 2 см^3 раствора, помещают в центрифужную пробирку и упаривают досуха. Далее проводят химическую трансформацию и хроматографический анализ, аналогично тому, как описано в п. 9.3 для градуировочных растворов. Количественное определение содержания анализируемого авермектина B_{1a} в растворе проводят по предварительно построенному градуировочному графику.

11. Вычисление результатов измерений

Концентрацию аверсектина С "С" (в мг/м^3) в воздухе вычисляют по формуле:

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

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

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

в – общий объем раствора пробы после проведения химической реакции, см^3;

г – объем жидкой пробы после экстракции с фильтра, см^3;

д – объем жидкой пробы, взятый для упаривания, см^3;

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

К = 0,4 - массовая доля авермектина B_{1a} в аверсектине С согласно ТУ 9383-009-17266133-

97.

12. Оформление результатов анализа

Результат количественного анализа представляют в виде $C \pm \Delta$ мг/м^3, P=0,95, где Δ-характеристика погрешности, $\Delta = 0{,}20C+0{,}0006$.

13. Контроль погрешности измерений

Значения характеристики погрешности, норматива оперативного контроля погрешности и норматива оперативного контроля воспроизводимости приведены в табл.3 в виде зависимости от значения массовой концентрации анализируемого компонента в пробе С.

Таблица 3. Результаты метрологической аттестации методики количественного химического анализа аверсектина С.

Диапазон определяемых концентраций аверсектина С, мг/м^3	Наименование метрологической характеристики		
	Характеристика погрешности Δ, мг/м^3; P=0,95	Норматив оперативного контроля точности К, мг/м^3; P=0,90, m=2	Норматив оперативного контроля воспроизводимости D, мг/м^3 ; P=0,95, m=2
От 0,025 до 0,5	0,20C+0,0006	0,21C+0,0007	0,12C + 0,0013

13.1. Оперативный контроль воспроизводимости.

Оперативный контроль воспроизводимости выполняют в одной серии с анализом рабочих проб. Отбирают реальные пробы воздуха из одного традиционного места отбора двумя пробоотборниками одновременно. Анализируют в соответствии с прописью методики, привлекая различных исполнителей и максимально варьируя условия проведения анализа (партии реактивов, набора мерной посуды и т.д.), и получают два результата C_1 и C_2 анализов. Результаты 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 из одного традиционного места отбора двумя пробоотборниками одновременно. Затем к одной пробе, отобранной на фильтр, делают добавку анализируемого компонента δС из раствора, нанося его на фильтр. 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. Величина

добавки δС должна соответствовать 50 – 150 % от содержания компонента в пробе, а величина C_2 не должна выходить за верхнюю границу диапазона измерения. Погрешность процедуры отбора проб контролируют путем поверки используемых пробоотборников. Расчет норматива оперативного контроля погрешности К 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-и проб при последовательном проведении анализов воздуха требуется 9 часов.

Тиражировано Издательским отделом Федерального центра
госсанэпиднадзора Минздрава России
Тираж 300 экз.

gost.e-ecolog.ru