4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение концентраций аверсектина С в воздухе и почве

**Сборник методических указаний**
**МУК 4.1.1795а—4.1.1795б—03**

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** концентраций аверсектина С в воздухе и почве: Методические указания.—М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.—23 с.

1. Подготовлены Российским государственным медицинским университетом (Е. Б. Гугля).

2. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации – Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Г. Г. Онищенко 11 декабря 2003 г. и введены в действие с 1 марта 2004 г.

3. Введены впервые.

**ББК 51.21**

**© Минздрав России, 2004**
**© Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004**

# Содержание

Определение аверсектина С (по авермектину $B_{1a}$) в атмосферном воздухе населенных мест методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1795а—03 ..... 4

Определение аверсектина С (по авермектину $B_{1a}$) в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1795б—03 ..... 13

Список литературы ..... 23

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

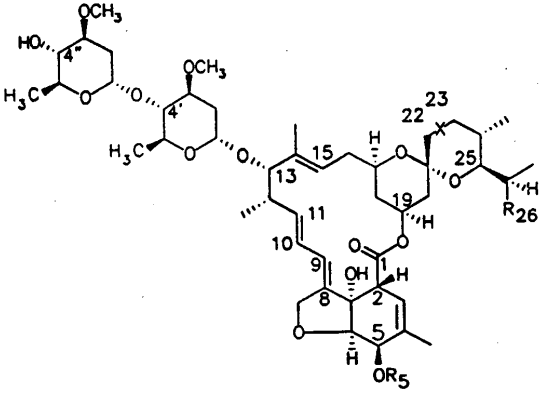
Г. Г. Онищенко
11 декабря 2003 г.
Дата введения: 1 марта 2004 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение аверсектина С (по авермектину $B_{1a}$) в атмосферном воздухе населенных мест методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

## Методические указания МУК 4.1.1795а—03

Настоящие методические указания устанавливают методику количественного химического анализа воздуха для определения в нем авермектина $B_{1a}$ (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]-4,8О,22,24-пентакоза-0,14,16,22-тетраен-6-спиро-2'(5',6'-дигидро-2Н-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 диапазоне концентраций 0,001—0,02 мг/м$^3$ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.



Авермектин $B_{1a}$ – один из восьми компонентов аверсектина С, противопаразитарного препарата, представляющего собой смесь близких в химическом отношении авермектинов – 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. Содержание компонента $B_{1a}$ в смеси составляет не менее 40 %.

Регистрационный номер по CAS 73989-17-0

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

Таблица 1

**Строение авермектинов**

| Тип авермектина | Эмпирическая формула | 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 | $OCH_3$ | $C_2H_5$ |
| $B_{1a}$ | $C_{48}H_{72}O_{14}$ | 872 | OH | $C_2H_5$ |
| $B_{2a}$ | $C_{48}H_{74}O_{15}$ | 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 | $OCH_3$ | $CH_3$ |
| $B_{1b}$ | $C_{47}H_{70}O_{14}$ | 858 | OH | $CH_3$ |
| $B_{2b}$ | $C_{47}H_{70}O_{15}$ | 876 | OH | $CH_3$ |

Агрегатное состояние в воздухе – аэрозоль.

Аверсектин С обладает общетоксическим действием. Класс опасности – первый. Предельно допустимая среднесуточная концентрация аверсектина С (по авермектину $B_{1a}$) в атмосферном воздухе – 0,002 мг/м$^3$.

## 1. Погрешность измерений

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

## 2. Метод измерений

Измерение массовой концентрации авермектина $B_{1a}$ основано на улавливании препарата аверсектина С из воздуха и концентрировании на фильтре, экстракции с фильтра этиловым спиртом, упаривании досу-

ха, получении флуоресцирующих производных авермектинов путем их дериватизации 1-метилимидазолом и трифторуксусным ангидридом в ацетонитриле, с последующим количественным определением производного авермектина $B_{1a}$ методом обращенно-фазовой ВЭЖХ путем элюирования водно-органическим элюентом с аналитической колонки Диасорб С-16Т и детектирования флуоресцентным детектором при длинах волн возбуждения и испускания 365 и 470 нм соответственно.

Нижний предел измерения авермектина $B_{1a}$ в объеме элюируемой пробы – 2,0 нг. Определению не мешают другие авермектины.

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

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы.

### *3.1. Средства измерений*

| | |
|---|---|
| Хроматограф жидкостный с флуоресцентным детектором (Du Pont 8800, США) | |
| Компьютерная программа Мультихром 1.5х | |
| Весы аналитические | ГОСТ 24104—88Е |
| Меры массы | ГОСТ 7328—82Е |
| Автоматические пипетки ГН | ТУ 64-1-3329—81 |
| Пипетки, вместимостью 1, 5 и 10 $см^3$ | ГОСТ 20292—74 |
| Колбы мерные, вместимостью 25 и 100 $см^3$ | ГОСТ 1770—74Е |

### *3.2. Вспомогательные устройства*

| | |
|---|---|
| Колонка хроматографическая стальная длиной 250 мм и внутренним диаметром 4 мм, заполненная сорбентом Диасорб-130-С16Т с размером частиц 6 мкм (БиоХимМак, Россия) | |
| Пробоотборное устройство АПВ-4-220В-40 | |
| Фильтродержатель | ТУ 95.72.05—77 |
| Воронка фильтровальная ВФ-20/16 | ГОСТ 25336—82 |
| Набор для фильтрации жидкостей (НПФ Биохром, Россия) | |
| Пробирки с пришлифованными пробками | ГОСТ 10515—72 |
| Бюксы 50/30 | ГОСТ 25336—82Е |
| Центрифуга низкоскоростная | |
| Центрифужные пробирки стеклянные, вместимостью 5 $см^3$ с полиэтиленовыми пробками | |
| Ультразвуковой диспергатор УЗДН-1М | |
| Морозильная камера или холодильник | |
| Вакуумный испаритель ротационный ИР-1М | ТУ 25-11-917—76 |

### *3.3. Материалы*

| | |
|---|---|
| Фильтры АФА-ВП-20 | ТУ 95-743—80 |

### *3.4. Реактивы*

| | |
|---|---|
| Авермектин $B_1$, содержание авермектина $B_{1a}$ 88,88 % | РСО 9340-201-00-494189—99 |
| Аверсектин С, содержание авермектина $B_{1a}$ не менее 40 % | ТУ 9383-009-17266133—97 |
| Спирт метиловый, хч | ГОСТ 6995—77 |
| Спирт этиловый, хч | ТУ 6-0951710—72 |
| 1-Метилимидазол импортный (Merk, Германия) | |
| Трифторуксусный ангидрид импортный (Merk, Германия) | |
| Ацетонитрил «для жидкостной хроматографии» | ТУ 6-09-14-2167—84 |
| Вода дистиллированная | ГОСТ 6709—72 |

Допускается применение иных средств измерения, вспомогательных устройств, реактивов и материалов, обеспечивающих показатели точности, установленные для данных методических указаний.

## 4. Требования безопасности

При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работы с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1005—88.

При выполнении измерений с использованием хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкцией по эксплуатации прибора.

## 5. Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений и обработке результатов допускают лиц с высшим и средним специальным образованием, имеющих навыки работы на жидкостном хроматографе.

## 6. Условия измерений

Приготовление растворов и подготовку проб к анализу проводят в нормальных условиях при температуре воздуха (20 ± 10) °С, атмосферном давлении 84—106 кПа и влажности воздуха не более 80 %.

## 7. Подготовка к выполнению измерений

Перед выполнением измерений проводят приготовление растворов, подготовку прибора, установление градуировочной характеристики, отбор проб.

### *7.1. Приготовление растворов*

*Стандартный раствор № 1* авермектина $B_1$ для градуировки. Раствор авермектина $B_1$ с концентрацией 100 мкг/см$^3$ готовят путем растворения точной навески 5,0 мг рабочего стандартного образца в этиловом спирте в мерной колбе объемом 50 см$^3$. Раствор хранят не более 2 месяцев в холодильнике.

*Стандартный раствор № 2* авермектина $B_1$ с концентрацией авермектина $B_{1a}$ 0,889 мкг/см$^3$ (авермектина $B_1$ 1,0 мкг/см$^3$) готовят путем разведения 1 см$^3$ стандартного раствора № 1 этиловым спиртом в мерных колбе объемом 100 см$^3$. Раствор хранят не более 2 недель в холодильнике.

*Реакционную смесь* готовят из трифторуксусного ангидрида и ацетонитрила в соотношении 1 : 2. Смесь готовят в день работы, помещают в холодильник при 0 °С и не хранят.

*Раствор элюента* готовят смешиванием в мерном цилиндре 98 см$^3$ метилового спирта и 2 см$^3$ воды. Непосредственно перед измерением раствор фильтруют с помощью устройства для фильтрации и фильтров «Дюрапор» и дегазируют под вакуумом.

*Градуировочные растворы* готовят разбавлением стандартного раствора № 2 этиловым спиртом в мерных колбах объемом 25 см$^3$ согласно табл. 2. Вносят пипеткой рабочий раствор в мерные колбы вместимостью 25 см$^3$ в соответствии с табл. 2, доводят уровень этиловым спиртом до метки и перемешивают. Градуировочные растворы устойчивы в течение недели при хранении в холодильнике.

Таблица 2

**Градуировочные растворы для установления градуировочной характеристики при определении концентрации авермектина $B_{1a}$ в воздухе**

| Номер раствора | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Объем стандартного раствора № 2, см$^3$ | 0 | 1,0 | 1,5 | 2,5 | 5,0 | 10,0 | 20,0 |
| Концентрация авермектина $B_{1a}$, мкг/см$^3$ | 0 | 0,0352 | 0,0528 | 0,0889 | 0,176 | 0,352 | 0,711 |
| Содержание авермектина $B_{1a}$ в хроматографируемом объеме пробы, нг | 0 | 2,01 | 3,02 | 5,08 | 10,06 | 20,11 | 40,2 |

### *7.2. Подготовка прибора*

Общую подготовку прибора осуществляют согласно инструкции по эксплуатации.

### *7.3. 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 авермектина $B_1$.

Для построения градуировочной характеристики 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 мин. 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–вода, 98 : 2 |
| скорость потока элюента | 2,0 $см^3$/мин |
| объем вводимой пробы | 20 $мм^3$ |
| длины волн флуоресцентного детектора | 365/470 нм |
| время удерживания авермектина $B_{1в}$ | 9,7 мин |
| $B_{1a}$ | 12,2 мин |

На полученных хроматограммах измеряют площадь пика авермектина $B_{1a}$ с помощью компьютерной программы (в условных единицах). Анализируют 6 растворов разных концентраций, проводя не менее 5 параллельных определений для каждого раствора, и строят градуировочную характеристику.

Проверку градуировочной характеристики проводят при изменении условий анализа, но не реже 1 раза в неделю.

### *7.4. Отбор проб*

Отбор проб воздуха проводят согласно ГОСТ 17.2.3.01—86. Воздух с объемным расходом 20 $дм^3$/мин аспирируют через фильтр АФА ВП-20. Для измерения ½ ПДК достаточно отобрать 350 $дм^3$. 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.

## 8. Выполнение измерений

Фильтр с отобранной пробой помещают в пробирку и приливают пипеткой 10 см$^3$ этилового спирта. Периодически встряхивая, выдерживают 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$^3$ экстракта, помещают в центрифужную пробирку и упаривают досуха. Далее проводят химическую трансформацию и хроматографический анализ, аналогично тому, как описано в п. 7.3 для градуировочных растворов. Количественное определение содержания анализируемого компонента $B_{1a}$ в растворе проводят по предварительно построенной градуировочной характеристике.

## 9. Вычисление результатов измерений

Концентрацию авермектина $B_{1a}$ «$C$» (мг/м$^3$) в воздухе вычисляют по формуле:

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

$а$ – содержание авермектина $B_{1a}$ в хроматографируемом объеме пробы, найденное по градуировочной характеристике, 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, взятой для упаривания, см$^3$;

$V$ – объем воздуха, отобранного для анализа и приведенного к стандартным условиям, дм$^3$ (см. прилож. 2).

Концентрацию аверсектина С «$C_1$» (мг/м$^3$) в воздухе вычисляют по формуле:

$$C_1 = \frac{C}{K}, \text{ где}$$

$C$ – концентрация авермектина $B_{1a}$, мг/м$^3$;

$K$ – массовая доля авермектина $B_{1a}$ в аверсектине С согласно ТУ 9383-009-17266133—97.

## 10. Оформление результатов измерений

Результаты измерений оформляют протоколом по форме:

**Протокол №**

количественного химического анализа аверсектина в воздухе

1. Дата проведения анализа _____
2. Место отбора пробы _____
3. Название лаборатории _____
4. Юридический адрес лаборатории _____

**Результаты химического анализа**

| Шифр или № пробы | Определяемый компонент | Концентрация, мг/м$^3$ | Погрешность измерения, % |
|---|---|---|---|
| | | | |

Ответственный исполнитель:

Научный руководитель:

## 11. Контроль погрешности измерений

### *11.1. Метрологическая аттестация методики*

Метрологическую аттестацию проводят в соответствии с ГОСТ Р 8.563—96, МИ 2336—95 и МИ 2335—95 (см. прилож. 2). 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 $C$. Концентрацию определяют как среднеарифметическое результатов параллельных определений.

Таблица 3

**Результаты метрологической аттестации методики количественного химического анализа авермектина $B_{1a}$**

| Диапазон определяемых концентраций авермектина $B_{1a}$, мг/м$^3$ | Наименование метрологической характеристики | | |
|---|---|---|---|
| | характеристика погрешности $\Delta$, 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 0,001 до 0,02 | $0,20C + 0,00005$ | $0,21C + 0,00006$ | $0,12C + 0,00014$ |

### *11.2. 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 разными аналитиками, максимально варьируя условия проведения анализа: партии реактивов, набора 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.

Внутренний оперативный контроль воспроизводимости проводят не реже, чем 1 раз в месяц.

### *11.3. 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 $\delta C$ 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 $\delta C$ 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:

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

Внутренний оперативный контроль точности проводят не реже, чем 1 раз в месяц.

Методические указания разработаны: ООО НБЦ «Фармбиомед» (В. Т. Тер-Симонян, Е. Б. Кругляк), Российский государственный медицинский университет (Е. Б. Гугля).

## Список литературы

1. Diserens H., Henzelin M. //Journal of Chromatography A., 1999. V. 833. №1. P. 13—18.

2. Руководство по контролю загрязнения атмосферы. РД 52.04.186—96. М., 1991. 693 с.

3. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, 1989 and 1990. 184 с.

4. Дмитриев М. Т., Казнина Н. И., Пинигина И. А. Санитарно-химический анализ загрязняющих веществ в окружающей среде. Справ. изд. М.: Химия, 1989. 368 с.

5. ГОСТ 8.563—96. ГСИ. Методики выполнения измерений.

6. ГОСТ 17.2.4.02—81. Охрана природы. Атмосфера. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ. М.: Изд-во стандартов, 1981. 3 с.

7. МИ 2336—95. Рекомендация ГСИ. Характеристики погрешности результатов количественного химического анализа. Алгоритмы оценивания. Екатеринбург, 1995. 44 с.

8. МИ 2335—95. Рекомендация ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа. Екатеринбург, 1995. 56 с.

gost.e-ecolog.ru