Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение концентраций пиноксадена в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2463—09

Издание официальное

Москва • 2009

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение концентраций пиноксадена в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2463—09

ББК 51.21
И37

И37 **Измерение** концентраций пиноксадена в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—14 с.

1. Разработаны Федеральным научным центром гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана (авторы Юдина Т. В., Федорова Н. Е., Волкова В. Н., Горячева Л. В.).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 25 декабря 2008 г. № 3).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 2 февраля 2009 г.

4. Введены в действие с 2 февраля 2009 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

© Роспотребнадзор, 2009
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

Содержание

Измерение концентраций пиноксадена в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии 4
1. Погрешность измерений 5
2. Метод измерений 5
3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы 6
3.1. Средства измерений 6
3.2. Реактивы 6
3.3. Вспомогательные устройства, материалы 6
4. Требования безопасности 7
5. Требования к квалификации операторов 8
6. Условия измерений 8
7. Подготовка к выполнению измерений 8
7.1. Подготовка смеси растворителей для приготовления градуировочных растворов и проб 8
7.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ 8
7.3. Кондиционирование хроматографической колонки 8
7.4. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения 9
7.5. Установление градуировочной характеристики 9
7.6. Подготовка фильтров для отбора проб воздуха 10
7.7. Подготовка салфеток для проведения смыва 10
8. Отбор и хранение проб воздуха 10
9. Условия проведения смыва 11
10. Выполнение измерений 11
10.1. Воздушная среда 11
10.2. Смывы с кожных покровов 11
11. Обработка результатов анализа 12
11.1. Воздушная среда 12
11.2. Смывы с кожных покровов 13
12. Оформление результатов измерений 13
13. Контроль погрешности измерений 14
14. Разработчики 14

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
2 февраля 2009 г.
Дата введения: 29 апреля 2009 г

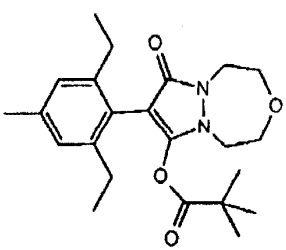
4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение концентраций пиноксадена в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.2463—09

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов концентрации пиноксадена в диапазонах соответственно 0,1—2,0 мг/м^3; 0,1—2,0 мкг/смыв.

2,2-Диметилпропионовая кислота, 8-(2,6-диэтил-4-метилфенил)-9-оксо-1,2,4,5тетрагидро-9Н-пиразоло[1,2-d][1,4,5]оксадиазепин-7- ил эфир (IUPAC)



$C_{23}H_{32}N_2O_4$.
Мол. масса 400,5.

Бесцветное кристаллическое вещество, со сладковатым запахом. Температура плавления 120,5—121,6 °С. Давление паров – 2,0 × 10^{-7} Па (при 20 °С), 4,6 × 10^{-7} Па (при 25 °С). Растворимость в органических растворителях при 25 °С (в г/дм^3): ацетон – 250; дихлорметан – > 500; этилацетат – 130; метанол – 260; толуол – 130; *н*-октанол – 140; *н*-гексан – 1,0. Растворимость в воде 200 мг/дм^3 (25°°С). Коэффициент распределения *н*-октанол-вода - $\log K_{ow}$ = 3,2.

Гидролитическая стабильность (DT_{50}) при 25 °С – 17,2 дней (pH 4); 17,5 дней (pH 5); 9,9 дней (pH 7); 0,2 дня (pH 9).

Агрегатное состояние в воздушной среде – аэрозоль.

Краткая токсикологическая характеристика.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов – более 2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс (4 ч) – 4,63 мг/дм^3 (самцы), 6,24 мг/дм^3 (самки).

Область применения препарата.

Пиноксаден рекомендуется в качестве высокоэффективного селективного послевсходового гербицида для подавления роста широкого спектра лаковых сорняков на посевах ячменя, пшеницы, ржи и тритикале.

Ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) пиноксадена 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 пиноксадена выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с ультрафиолетовым детектором.

Концентрирование пиноксадена из воздуха осуществляют на бумажный фильтр «синяя лента», экстракцию с фильтров проводят этиловым спиртом. Смыв с кожных покровов также проводят этиловым спиртом.

Нижний предел измерения в анализируемом объеме пробы – 1 нг. Средняя полнота извлечения с фильтров – 95,82 %, с поверхности кожи – 92,28 %.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы «Perkin Elmer», США)	Номер в Государственном реестре средств измерений 15311-02
Барометр-анероид М-67	ТУ 2504-1797-75
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Колбы мерные 2-100-2 и 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2 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 ПУ-442ТЦ исп.1 (ЗАО «ОПТЭК», г. Санкт-Петербург)	Номер в Государственном реестре средств измерений 14531-03
Термометр лабораторный шкальный ТЛ-2, цена деления 1°С, пределы измерения 0—55 °С	ТУ 215-73Е
Цилиндры мерные 2 класса точности вместимостью 10, 250, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Пиноксаден, аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99,7 % (фирмы «Сингента»)	
Вода бидистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	ГОСТ 6709
Кислота муравьиная, 85 %, Panreac	
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Этиловый спирт (этанол) ректификованный	ГОСТ Р 51652 или ГОСТ 18300

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
Бумажные фильтры «синяя лента», обеззоленные	ТУ 6-09-2678-77

Бязь хлопчатобумажная белая	
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 В-169 фирмы «Buchi», Швейцария	
Стаканы химические низкие с носиком, вместимостью 150 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Стеклянные емкости вместимостью 100 $см^3$ с герметичной металлической крышкой	
Стеклянные палочки	
Установка для перегонки растворителей	
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 2,0 мм, содержащая Spherisorb® S5 ODS 2, 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 жидкостный 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 концен-

трации (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 ± 5) °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: подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, приготовление растворов для градуировки и внесения, установление градуировочной характеристики, подготовка фильтров и салфеток для отбора проб, отбор проб.

7.1. Подготовка смеси растворителей для приготовления градуировочных растворов и проб

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 200 $см^3$ метанола и доводят до метки бидистиллированной или деионизованной водой, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 250 $см^3$ бидистиллированной или деионизованной воды, 1 $см^3$ муравьиной кислоты, 750 $см^3$ метанола, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки

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

7.4. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.4.1. Исходный раствор пиноксадена для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 0,0100 г пиноксадена, добавляют 50—70 см^3 метанола, перемешивают, доводят метанолом до метки, вновь перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 3 мес.

Растворы №№ 1—6 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора для градуировки.

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

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено-найдено».

7.4.3. Рабочие растворы №№ 2—6 пиноксадена для градуировки (концентрация 0,05—1,0 мкг/см^3). В 5 мерных колб вместимостью 100 см^3 помещают по 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 см^3 градуировочного раствора № 1 с концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 7.4.2), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.2, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2—6 с концентрацией пиноксадена 0,05; 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мкг/см^3 соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике в течение 7 дней.

7.5. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (относительные единицы) от концентрации пиноксадена в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 5 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 параллельных измерений. Устанавливают площади пиков действующего вещества.

Градуировочный график проверяют ежедневно по анализу 2 растворов для градуировки различной концентрации. Если значения площадей отличаются более чем на 12 % 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.

Жидкостный хроматограф «Perkin Elmer» (США) с ультрафиолетовым детектором.

Хроматографическая колонка стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 2,0 мм, содержащая Spherisorb® S5 ODS 2, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная.

Подвижная фаза: метанол – вода–муравьиная кислота (75 : 25 : 0,1, по объему).

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

Рабочая длина волны: 254 нм.

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$.

Ориентировочное время выхода пиноксадена: 7,7—8,0 мин.

Линейный диапазон детектирования: 1—20 нг.

7.6. Подготовка фильтров для отбора проб воздуха

Диаметр бумажного фильтра «синяя лента» должен соответствовать внутреннему диаметру фильтродержателя.

Фильтры последовательно по 3 раза промывают на воронке Бюхнера этанолом порциями 25—30 $см^3$, сушат с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, затем на воздухе при комнатной температуре. До использования фильтры хранят в герметично закрытой стеклянной таре.

7.7. Подготовка салфеток для проведения смыва

Вырезают салфетки (лоскуты) из белой бязи размером 10 × 10 см, последовательно обрабатывают их 5 %-м раствором углекислого натрия (при кипячении), водой до нейтральной реакции промывных вод, двухкратно промывают этиловым спиртом, сушат на воздухе при комнатной температуре. До использования салфетки хранят в герметично закрытой стеклянной таре.

8. Отбор и хранение проб воздуха

Отбор проб проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005—88 «ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны». Воздух с объемным расходом 1—4 $дм^3$/мин аспирируют через бумажный фильтр «синяя лента», помещенный в фильтродержатель.

Для измерения концентрации пиноксадена на уровне предела обнаружения (0,1 мг/$м^3$) необходимо отобрать 2,5 $дм^3$ воздуха, 0,5 ОБУВ для воздуха рабочей зоны – 0,5 $дм^3$ воздуха. Срок хранения отобранных

проб, помещенных в полиэтиленовые пакеты, в морозильной камере при температуре -18 °С – 30 дней.

9. Условия проведения смыва

Смывы проводят в конце работы или после выполнения отдельных операций с открытых и закрытых спецодеждой или другими СИЗ участков тела (лоб, лицо, шея, грудь, предплечье, голень, кисти рук, включая межпальцевые промежутки).

До работы выбирают участок кожи, обрабатывают его с целью удаления загрязнений, фиксируют площадь (не менее 200 $см^2$). При необходимости отбирают фоновые смывы.

Смыв проводят способом обмыва фиксированного участка кожи этиловым спиртом, помещая 20 $см^3$ в стеклянную емкостью с металлической крышкой. Тканевой салфеткой, смоченной растворителем, с помощью пинцета (индивидуально) обмывают кожный покров сверху вниз. Операцию повторяют дважды.

Срок хранения отобранных проб смывов, помещенных в герметично закрытые емкости, в морозильной камере при температуре -18 °С – 30 дней.

10. Выполнение измерений

10.1. Воздушная среда

Экспонированный фильтр переносят в химический стакан вместимостью 150 $см^3$, заливают 20 $см^3$ этилового спирта, помещают на встряхиватель на 10 мин. Растворитель сливают, фильтр обрабатывают новыми порциями этилового спирта объемом 10 $см^3$ еще дважды, выдерживая на встряхивателе по 10 мин.

Объединенный экстракт упаривают в грушевидной колбе на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 30 °С почти досуха, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха. К остатку добавляют 1 $см^3$ метанола, выдерживают 1 мин на ультразвуковой бане, добавляют 4 $см^3$ смеси растворителей (подготовленной по п. 7.1), снова выдерживают на ультразвуковой бане и анализируют при условиях хроматографирования, указанных в п. 7.5.1.

10.2. Смывы с кожных покровов

Пробу смыва сливают (через воронку) в колбу для упаривания, с помощью пинцета извлекают салфетку, помещают в конусную химическую воронку, установленную в муфту колбы для упаривания, тщательно отжимают и промывают этиловым спиртом дважды порциями по

10 см^3, предварительно ополаскивая растворителем емкость, в которой находилась проба.

Объединенный раствор упаривают в грушевидной колбе на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 30 °С почти досуха, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха. Остаток последовательно растворяют в 1 см^3 метанола и 1 см^3 смеси растворителей (подготовленной по п. 7.1), выдерживая по 1 мин на ультразвуковой бане, и анализируют при условиях хроматографирования, указанных в п. 7.5.1.

Пробу вводят в испаритель хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площадь пика действующего вещества, с помощью градуировочного графика определяют концентрацию пиноксадена в хроматографируемом растворе.

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой (не более чем в 50 раз).

Перед анализом опытных образцов проводят хроматографирование холостых (контрольных) проб – экстрактов неэкспонированного фильтра и салфетки.

11. Обработка результатов анализа

11.1. Воздушная среда

Концентрацию пиноксадена в пробе воздуха X, мг/м^3, рассчитывают по формуле:

$$X = C \times \frac{W}{V_t}, \text{ где}$$

C – концентрация пиноксадена 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_t – объем пробы воздуха, отобранный для анализа, приведенный к стандартным условиям (давление 760 мм рт. ст., температура 20 °С), дм^3.

$$V_t = 0{,}386 \times P \times \frac{u \times t}{(273 + T)},$$

T – температура воздуха при отборе пробы (на входе в аспиратор), °С;

P – атмосферное давление при отборе пробы, мм рт. ст.;

u – расход воздуха при отборе пробы, дм^3/мин;

t – длительность отбора пробы, мин.

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

$$|X_1 - X_2| \le d \,,$$

$$d = d_{отн} \times \frac{\bar{X}}{100}, \text{ мг/м}^3, \text{ где}$$

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

$d_{отн.}$ – норматив оперативного контроля сходимости, % (равен 15%).

11.2. Смывы с кожных покровов

Концентрацию пиноксадена в пробе смыва X, мкг/смыв, рассчитывают по формуле:

$$X = C \times W, \text{ где}$$

C – концентрация пиноксадена 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;

Примечание: Идентификация и расчет концентрации пиноксадена в пробах могут быть проведены с помощью компьютерной программы обработки хроматографических данных, включенной в аналитическую систему.

12. Оформление результатов измерений

Результат количественного анализа представляют в виде:

Результат анализа $\bar{X}$ в мг/м^3 или мкг/смыв (с указанием площади смыва в см^2), характеристика погрешности δ, % (± 25 %), P = 0,95 или

$\bar{X} \pm \Delta$ мг/м^3 (мкг/смыв, площадь смыва, см^2), P = 0,95, где

Δ – абсолютная погрешность.

$$\Delta = \frac{\delta \times \bar{X}}{100}, \text{ мг/м}^3 \text{ (мкг/смыв).}$$

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

Если содержание вещества менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

*«содержание пиноксадена в пробе воздуха рабочей зоны – менее 0,1 мг/м^3; смыва – менее 0,1 мкг/смыв»**

** - 0,1 мг/м^3; 0,1 мкг/смыв - пределы обнаружения при отборе 2,5 дм^3 воздуха рабочей зоны; в пробе смыва (фиксированная площадь смыва, 200 см^2) соответственно.*

13. 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».

14. Разработчики

Юдина Т. В., Федорова Н. Е., Волкова В. Н., Горячева Л. В. (ФГУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана Роспотребнадзора»).

Измерение концентраций пиноксадена в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2463—09

Технический редактор А. В. Терентьева

Подписано в печать 18.12.09

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0

Тираж 200 экз.

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

gost.e-ecolog.ru