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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Методические указания
МУК 4.1.2460—09

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
И37

И37 **Измерение** концентраций хлорантранилипрола 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 (Т. В. Юдина, Н. Е. Федорова, В. Н. Волкова.).

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 29 апреля 2009 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

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

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.

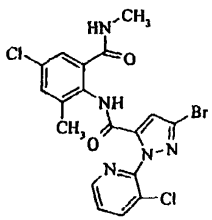
4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Методические указания МУК 4.1.2460—09

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов массовой концентрации хлорантранилипрола в диапазонах соответственно 0,1—1,5 мг/м^3; 0,2—3,0 мкг/смыв.

3-Бром-N-[4-хлор-2-метил-6-(метилкарбамоил)фенил]-1-(3-хлорпиридин-2-ил)-1Н-пиразол-5-карбоксамид (IUPAC)



$C_{18}H_{14}BrCl_2N_5O_2$
Мол. масса 483,15

Бесцветное кристаллическое вещество. Температура плавления 208—210 °С. Давление паров $6,3 \times 10^{-12}$ Па при 20 °С; $2,1 \times 10^{-11}$ Па при 25 °С. Растворимость в органических растворителях при 20 °С (в г/дм^3): ацетон – 3,446; ацетонитрил - 0,711; диметилформамид - 124; дихлорметан – 2,476; этилацетат – 1,144; метанол – 1,714; толуол – 0,32; *н*-октанол – 0,386; *н*-гексан < 0,0001. Растворимость в воде при 20 °С (в мг/дм^3): 0,972 (pH 4), 0,880 (pH 7), 0,971 (pH 9). Коэффициент распределения *н*-октанол/вода K_{ow} logP 2,76.

Агрегатное состояние в воздушной среде – аэрозоль.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс и мышей - более 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – более 5,1 г/дм^3 (4 ч).

Область применения препарата

Хлорантранилипрол – инсектицид широкого спектра действия химического класса антранилдиамидов, рекомендуется к применению для защиты яблонь от плодожорки, листовертки, а также картофеля от колорадского жука.

Ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) хлорантранилипрола в воздухе рабочей зоны – 1,5 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 хлорантранилипрола выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с ультрафиолетовым детектором.

Концентрирование хлорантранилипрола 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 2 нг. Средняя полнота извлечения с фильтров – 95,76 %, с поверхности кожи – 84,01 %.

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 Госреестра 15311—02
Барометр-анероид М-67	ТУ 2504-1797—75
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Колбы мерные 2-100-2 и 2-1 000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10, 15 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные вместимостью 5 или 10 $см^3$	ГОСТ 1770
Пробоотборное устройство ПУ-4Э исп.1 (ЗАО «ОПТЭК», г. Санкт-Петербург)	Номер Госреестра 14531—03
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, 250, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Хлорантранилипрол, аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99,2 % (фирмы «Du Pont»)	
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ-6-09-4326—76
Вода бидистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	ГОСТ 6709
Кислота орто-фосфорная, хч, 85 %	ГОСТ 6552

Кислота муравьиная	
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	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 4,0 мм, содержащая Кромасил 100 С18, зернением 5 мкм	

Шприц для ввода образцов для жидкостного
хроматографа вместимостью 50—100 мм^3

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими 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 ± 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: очистка ацетонитрила (при необходимости), 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. Очистка ацетонитрила

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

7.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

7.2.1. Подвижная фаза №1 (для анализа по п. 7.5.1.1) В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 350 см^3 бидистиллированной или деионизованной воды, 1,0 см^3 муравьиной кислоты, 650 см^3 метанола, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.2.2. Подвижная фаза №2 (для анализа по п. 7.5.1.2) В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 450 см^3 бидистиллированной или деионизованной воды, 1,0 см^3 орто-фосфорной кислоты, 550 см^3 ацетонитрила, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки. Промывают колонку (п. 7.5.1.1 или п. 7.5.1.2) подвижной фазой (приготовленной по п. 7.2.1 или п. 7.2.2) при скорости подачи растворителя соответственно 0,3 или 0,8 см^3/мин до установления стабильной базовой линии.

7.4. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.4.1. Исходный раствор хлорантранилипрола для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 0,0100 г хлорантранилипрола, добавляют 50—70 см^3 ацетонитрила, перемешивают, доводят ацетонитрилом до метки, вновь 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 хлорантранилипрола для градуировки и внесения (концентрация 10 мкг/см^3) В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного раствора хлорантранилипрола с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.4.1), разбавляют ацетонитрилом 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 хлорантранилипрола для градуировки (концентрация 0,1—1,5 мкг/см^3). В 5 мерных колб вместимостью 100 см^3 помещают по 1,0, 2,0, 5,0, 10 и 15 см^3 градуировочного раствора №1 с концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 7.4.2), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.2.1 или п. 7.2.2, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2—6 с концентрацией хлорантранилипрола 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 и 1,5 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 хлорантранилипрола 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. 7.5.1.1 и п. 7.5.1.2. Осуществляют не менее 3-х 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 13,5 % 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

Рабочая длина волны:	260 нм
Объем вводимой пробы:	20 мм^3

7.5.1.1. 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 (65 : 35 : 0.1, по объему)
Скорость потока элюента:	0,3 см^3/мин

Ориентировочное время выхода хлорантранилипрола:	6,9—7,1 мин

7.5.1.2. Хроматографическая колонка стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,0 мм, содержащая Кромасил 100 С18, зернением 5 мкм

Температура колонки:	комнатная
Подвижная фаза:	ацетонитрил-вода-ортофосфорная кислота (55 : 45 : 0,1, по объему)
Скорость потока элюента:	0,8 $см^3$/мин
Ориентировочное время выхода хлорантранилипрола:	7,9—8,1 мин
Линейный диапазон детектирования Хлорантранилипрола	2—30 г.

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, 2-кратно 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 хлорантранилипрола на уровне предела обнаружения (0,1 мг/$м^3$) необходимо отобрать 5 $дм^3$ воздуха, на

уровне 0,5 ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,7 дм^3.Срок хранения отобранных проб, помещенных в полиэтиленовые пакеты, в холодильнике при температуре 4—6 °С – 7 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, спина, 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 минут. Растворитель сливают, фильтр обрабатывают новыми порциями этилового спирта объемом 10 см^3 еще дважды, выдерживая на встряхивателе по 10 минут.

Объединенный экстракт упаривают в грушевидной колбе на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С почти досуха, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха. Остаток растворяют в 5 см^3 подвижной фазы (подготовленной по п. 7.2.1 или 7.2.2) и анализируют при условиях хроматографирования, указанных в п. 7.5.1.1 или 7.5.1.2.

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 40 °С почти досуха, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха. Остаток растворяют в 2 см^3 подвижной фазы (подготовленной по п. 7.2.1 или 7.2.2) и анализируют при условиях хроматографирования, указанных в п. 7.5.1.1 или 7.5.1.2.

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

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 1,5 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой.

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

11. Обработка результатов анализа

11.1. Воздушная среда

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

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

C – концентрация хлорантранилипрола 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.

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

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

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

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

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

$d_{отн}$ - норматив оперативного контроля сходимости, % (равен 14 %).

11.2. Смывы с кожных покровов

Массовую концентрацию хлорантранилипрола в пробе смыва X, мкг/смыв, рассчитывают по формуле:

$$X = C \times W$$, где

C - концентрация хлорантранилипрола 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 хлорантранилипрола 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 $\overline{X}$ в мг/м^3 или мкг/смыв (с указанием площади смыва в см^2), характеристика погрешности δ, % (± 25 %), $P = 0{,}95$ или $\overline{X} \pm \Delta$ мг/м^3 (мкг/смыв, площадь смыва, см^2), $P = 0{,}95$, где Δ - абсолютная погрешность.

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

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 хлорантранилипрола 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 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. (ФГУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана Роспотребнадзора»).

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

Методические указания
МУК 4.1.2460—09

Технический редактор А. В. Терентьева

Подписано в печать 30.06.09

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. 18/20

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