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 4.1.1941—4.1.1954—05

Издание официальное

Москва, 2009

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О37

О37 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—140 с.

1. Сборник подготовлен Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (академик РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); при участии специалистов Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Разработчики методов указаны в каждом из них.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, академиком РАМН Г. Г. Онищенко.

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 8.75

Тираж 100 экз.

Тиражировано отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

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

Г.Г. Онищенко

МУК 4.1.1948-05

«18» января 2005 г.

Дата введения: 18.04.05

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по измерению концентраций Ивермектина в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе массовой концентрации ивермектина в диапазонах 0,04 - 0,4 мг/м^3 (воздух рабочей зоны) и 0,0008 – 0,008 мг/м^3 (атмосферный воздух).

Ивермектин - действующее вещество ветеринарных препаратов БАЙМЕК 1% ИР, фирма производитель Байер АГ (Германия);
ИВЕРСЕКТ 1% ИР, фирма производитель "Фармбиомедсервис";
ИВЕРМЕК 1% ИР, фирма производитель ЗАО "Нита-Фарм";
ИВЕРМАК 1% ИР, фирма производитель ЗАО "Мосагроген".

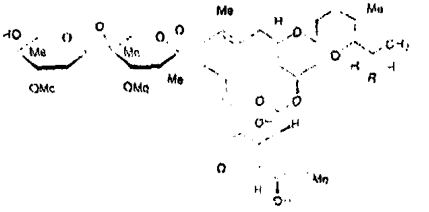
Ивермектин – смесь компонентов H_2B_{1a} и H_2B_{1b}. Содержание компонента H_2B_{1a} не менее 80%.

Компонент H_2B_{1a} - (*2aE,4E,8E*)-(5′*S*,6*S*,′*R*,7*S*,11*R*,13*R*,15*S*,17a*R*,20*R*,20a*R*,20b*S*)-20,20b-дигидрокси-5′,6,8,19-тетраметил-7-[[(3-*O*-метил-4-*O*-(3-O-метил-2,6-дидеокси-α-L-арабино-гексапиранозил)-2,6-дидеокси-α-L-арабино-гексапиранозил]-окси]-6′-[(1*S*)-1-метилпропил]-3′,4′,5′,6,6′,7,10,11,14,15,17a,20,20a-,20b-тетрадека-гидроспиро[11,15-метано-2H,13H,17H-фуро[4,3,2pq][2.6]бензодиокса-циклоокта-децен-13,2′-[2H]пиран]-17-он (или 5-O-деметил-22,23-дигидроавермектин A_{1a})

Компонент H_2B_{1b} - (*2aE,4E,8E*)-(5′*S*,6*S*,′*R*,7*S*,11*R*,13*R*,15*S*,17a*R*,20*R*,20a*R*,20b*S*)-20,20b-дигидрокси-5′,6,8,19-тетраметил-6′-(1-метилэтил)-7-[[(3-*O*-метил-4-*O*-(3-O-

метил-2,6-дидеокси-α-L-арабино-гексапиранозил)-2,6-дидеокси-α-L-арабино-гексапиранозил]-окси]-3′,4′,5′,6,6′,7,10,11,14,15,17a,20,20a-,20b-тетрадека-гидроспиро[11,15-метано-2H,-13H,17H-фуро[4,3,2pq][2,6]бензодиокса-циклооктадецен-13,2′-[2H]пиран]-17-он (или 25-(1-метилэтил)-5-*O*-деметил)-25-де(1-метилпропил)-22,23-дигидроавермектин A_{1a}).

метилпропил)-22,23-дигидроавермектин A_{1a}).



Компонент	R	Эмпирическая формула	Молекуляная масса
H_2B_{1a}	CH_2-CH_3	$C_{48}H_{74}O_{14}$	875
$H_2B_{1в}$	CH_3	$C_{47}H_{72}O_{14}$	861

Ивермектин - кристаллический порошок, без запаха, цвет от белого до желтовато - белого. Насыпная плотность от 1,1 до 1,3 г/см^3. Давление паров: 1,5 x 10^{-9} мм рт. ст. (20 °С). Практически нерастворим в воде (около 10 мкг/дм^3 при 21^{0}С), плохо растворим в алифатических углеводородах и циклогексане. Растворим в этиловом спирте, хорошо растворим в метиленхлориде, метилэтилкетоне, пропиленгликоле, полиэтиленгликоле. Ивермектин получают путем селективного каталитического восстановления абамектина, который в свою очередь является продуктом жизнедеятельности почвенных организмов Streptomyces avermitilis.

Температура плавления 150 – 155^{0}С.

Агрегатное состояние в воздухе - аэрозоль.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс: 42,8 – 52,8 мг/кг, для мышей: 11,6 – 87,2 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 660 мг/кг, для кроликов – 406 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LK_{50}) для крыс > 5110 мг/м^3.

Область применения препарата

Ивермектин используется в качестве антипаразитарного и антигельминтного средства (против нематод, вшей, кровососок, возбудителей саркоптоидозов, личинок овода и других членистоногих) для крупного рогатого скота, овец, свиней путем подкожного введения 1%-ного раствора.

Ориентировочно безопасный уровень воздействия (ОБУВ) ивермектина в воздухе рабочей зоны - 0,04 мг/м^3, в атмосферном воздухе - 0,001 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 ивермектина выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с флуориметрическим детектором после превращения вещества во флуорогенное производное.

Концентрирование ивермектина из воздуха осуществляют на бумажные фильтры "синяя лента", экстракцию с фильтра проводят этанолом.

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

Определению не мешают компоненты препаративных форм.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с флуориметрическим детектором с переменной длиной волны (фирмы Perkin-Elmer, США)	Номер Госреестра 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	ГОСТ 29227

вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 см^3	
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^{0}С, пределы измерения 0 - 55^{0}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

Ивермектин с содержанием компонента H_2B_{1a} - 83,9%; H_2B_{1b} – 5,9% (Байер АГ, Германия)	
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ-6-09-4326-76
Вода бидистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	ГОСТ 6709
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
1-N-метилимидазол, puriss. for DNA synthesis, ≥99%, Fluka	
Трифторуксусный ангидрид, purum; ≥98.0% (GC), Fluka	
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Этиловый спирт (этанол)	ГОСТ Р 51652

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
Воронки конусные диаметром 30-37 мм	ГОСТ 25336
Груша резиновая	
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100 см^3 и 250 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	
Холодильник водяной, обратный	ГОСТ 9737
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 работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами по ГОСТу 12.1005

4.2. При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТом 12.1.019 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5. Требования к квалификации операторов

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

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20±5)^{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 (при необходимости), приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ, растворов, реактива для дериватизации, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, отбор проб.

7.1. 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 980 $см^3$ метанола, добавляют 20 $см^3$ бидистиллированной или деионизированной воды, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.2) при скорости подачи растворителя 1,7 $см^3$/мин до установления стабильной базовой линии.

7.4. Приготовление реактива для дериватизации

Смешивают трифторуксусный ангидрид и свежеперегнанный ацетонитрил в объеме 1 : 2. Реактив годен к употреблению в течение рабочего дня.

7.5. Приготовление градуировочных растворов

7.5.1 Исходный раствор ивермектина для градуировки (концентрация 100 мкг/см³) В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,0111 г ивермектина (содержащего 89,8% действующего вещества: компонента H_2B_{1a} - 83,9%; H_2B_{1b} – 5,9%), растворяют в 50-70 $см^3$ ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают. Раствор хранится в морозильной камере в течение месяца.

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

7.5.2. Раствор № 1 ивермектина для градуировки (концентрация 1 мкг/см^3)

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 1 см^3 исходного градуировочного раствора ивермектина с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.5.1.), разбавляют ацетонитрилом до метки. Раствор хранится в морозильной камере в течение 10-ти дней.

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения ивермектина из исследуемых образцов.

7.5.3. Рабочие растворы № 2 – 5 ивермектина для градуировки (концентрация 0.01 - 0.1 мкг/см^3)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 см^3 стандартного раствора №1 с концентрацией 1 мкг/см^3 (п. 7.5.2.), доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2 - 5 с концентрацией ивермектина 0.01, 0.02, 0.05 и 0.10 мкг/см^3, соответственно.

Растворы хранятся в морозильной камере не более недели.

7.6. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (mB x сек) от содержания ивермектина в растворе (мкг), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам флуорогенного производного ивермектина для градуировки

Для построения градуировочной харатеристики в градуированные пробирки вместимостью 5 см^3 вносят по 1 см^3 каждого из 4-х рабочих растворов ивермектина №№ 2-5, прибавляют по 0.1 см^3 1-N-метилимидазола, перемешивают. Смесь охлаждают до 0-5^{0}C, помещая пробирки с ледяную баню, добавляют по каплям 0,3 см^3 реактива для дериватизации (п.7.4), перемешивают и выдерживают час при комнатной температуре.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п 7.6.1. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

7.6.1. Условия хроматографирования

Колонка стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 4,0 мм, содержащая Zorbax ODS, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: метанол-вода (98:2, по объему)

Скорость потока элюента: 1.7 $см^3$/мин

Длина волны: возбуждение 364 нм

эмиссия 470 нм

Показание аттенюатора: 64

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$

Ориентировочное время выхода флуорогенного производного ивермектина: около 11 мин.

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор ивермектина с концентрацией 0.1 мкг/$см^3$, разбавляют ацетонитрилом.

7.7. Отбор проб

7.7.1 Воздух рабочей зоны

Отбор проб проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 "ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны". В течение 15 минут последовательно отбирают 5 проб, для чего воздух аспирируют в течение 3-х минут с объемным расходом 2 – 4 $дм^3$/мин через бумажный фильтр "синяя лента", помещенный в фильтродержатель.

Для измерения ивермектина на уровне 0,5 ОБУВ для воздуха рабочей зоны необходимо отобрать 7,5 $дм^3$ воздуха. Срок хранения отобранных проб, помещенных в полиэтиленовые пакеты, в морозильной камере при температуре не выше -10^0С - 5 дней

7.7.2 Атмосферный воздух

Отбор проб проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 17.2.4.02-81 "ОПА. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ в воздухе населенных мест". Воздух с объемным расходом 2-4 $дм^3$/мин аспирируют через бумажный фильтр "синяя лента", помещенный в фильтродержатель.

Для измерения концентрации ивермектина на уровне 0,8 ОБУВ для атмосферного воздуха необходимо отобрать 12.5 $дм^3$ воздуха. Срок хранения отобранных проб, помещенных в полиэтиленовые пакеты, в морозильной камере при температуре не выше -10^0С - 5 дней.

8. Выполнение определения

8.1. Экстракция

8.1.1. Воздух рабочей зоны

Фильтр с отобранной пробой переносят в химический стакан вместимостью 100 $см^3$, заливают 10 $см^3$ этанола, помещают на встряхиватель на 10 минут. Растворитель сливают в мерный цилиндр вместимостью 50 $см^3$, отжимая фильтр стеклянной палочкой. Фильтр еще дважды обрабатывают новыми порциями этанола объемом 10 $см^3$.

Объединенный экстракт доводят этанолом до объема 30 $см^3$, перемешивают, отбирают аликвоту объемом 1 $см^3$, переносят в грушевидную колбу и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40^0С досуха, остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила и подвергают дериватизации по п. 8.2.

8.1.2. Атмосферный воздух

Фильтр с отобранной пробой переносят в химический стакан вместимостью 100 $см^3$, заливают 10 $см^3$ этанола, помещают на встряхиватель на 10 минут. Растворитель сливают, фильтр еще дважды обрабатывают новыми порциями этанола объемом 10 $см^3$.

Объединенный экстракт упаривают в грушевидной колбе на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40^0С досуха, остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила и подвергают дериватизации по п. 8.2.

8.2. Дериватизация

К ацетонитрильному раствору прибавляют 0,1 $см^3$ 1-N-метилимидазола, перемешивают. Смесь охлаждают до 0-5^0С, помещая колбу в ледяную баню, добавляют по каплям 0,3 $см^3$ реактива для дериватизации (п.7.4), перемешивают, выдерживают 1 час при комнатной температуре и анализируют в условиях хроматографирования, указанных в п. 7.6.1.

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

Перед анализом опытной пробы проводят хроматографирование холостой (контрольной) пробы – дериватизированного экстракта неэкспонированного фильтра.

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор ивермектина с концентрацией 0,1 мкг/см^3, разбавляют ацетонитрилом.

9. Обработка результатов анализа

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

$$X = C * W*K/V_{20}, \text{ где}$$

C - концентрация ивермектина 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;

K – коэффициент пересчета, учитывающий объем экстракта с фильтра, используемый для анализа, равный 6 (для воздуха рабочей зоны), 1 (для атмосферного воздуха).

V_{20} - объем пробы воздуха, отобранный для анализа, приведенный к стандартным (давление 760 мм рт.ст., температура 20° С) при исследовании воздуха рабочей зоны или нормальным условиям (давление 760 мм рт ст., температура 0° С) при исследовании атмосферного воздуха

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

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

R – коэффициент, равный 0.386 для воздуха рабочей зоны и 0,357 для атмосферного воздуха.

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

10. 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».

11. Разработчики

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

gost.e-ecolog.ru