Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Методические указания
МУК 4.1.2383—08

Издание официальное

Москва • 2009

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Методические указания
МУК 4.1.2383-08

ББК 51.21

И 37

И 37 **Измерение** концентраций пенцикурона в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 20 с.

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

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 3 апреля 2008 г. № 1).

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 июля 2008 г.

4. Введены в действие с 5 сентября 2008 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25.

Тираж 200 экз.

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20

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

© 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 июля 2008 г.
Дата введения: 5 сентября 2008 г.

4.1.МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

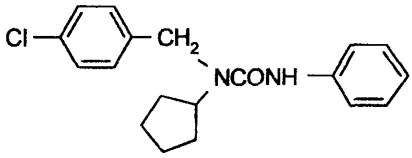
Измерение концентраций пенцикурона в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания

МУК 4.1.2383-08

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов массовой концентрации пенцикурона в диапазонах 0,05 – 1,0 мг/м^3; 0,1 – 2,0 мкг/смыв, соответственно.

1-(4-хлорбензил)-1-циклопентил-3-фенилмочевина (IUPAC)



$C_{19}H_{21}ClN_2O$

Мол. масса 328.8

Бесцветное кристаллическое вещество, без запаха. Температура плавления 128°С -132°С.Давление паров $5 \cdot 10^{-7}$ мПа (при 20 °С, экстраполированное). Растворимость в органических растворителях при 20 °С (в г/дм^3): дихлорметан - 270; толуол -20;

н-гексан-0,12. Растворимость в воде 0,3 мг/дм^3 (при 20 °С). Коэффициент распределения н-октанол/вода K_{ow} logP: 4,68 (при 20 °С). Гидролитически стабилен, DT_{50} (20 °С) 280 дней (pH 4), 22 года (pH 7), 17 лет (pH 9). Подвергается фотодеградации в воде и на поверхности почвы.

Агрегатное состояние в воздушной среде – аэрозоль.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс - > 5000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов - > 2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс > 267 мг/м^3 (4 ч).

Область применения:

Пенцикурон – контактный фунгицид с длительным защитным действием. Применяется для подавления ризоктониоза и частично фитофтороза картофеля, пирикуляриоза риса, болезней всходов хлопка, овощей, сахарной свеклы, декоративных растений, путем опрыскивания и опыливания растений, обработки семян или внесения в почву.

Рекомендуемый ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,6 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 пенцикурона выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с ультрафиолетовым детектором.

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

Нижний предел измерения в анализируемом объеме пробы – 1 нг. Средняя полнота извлечения с фильтров – 97,08 %, с поверхности кожи – 89,86%.

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 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 $см^3$	ГОСТ 29227
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 500 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Пенцикурон, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 98,7%, (фирма «Вауег»)	
Ацетон, осч	ГОСТ 2306
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
Спирт этиловый 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
Баня водяная	
Бумажные фильтры «синяя лента», обеззоленные	ТУ 6-09-2678-77
Бязь хлопчатобумажная белая	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147
Воронки конусные диаметром 40-45 мм	ГОСТ 25336
Груша резиновая	
Колба Бунзена	ГОСТ 25336
Колбы грушевидные на шлифе вместимостью 150 $см^3$	ГОСТ 9737
Насос водоструйный	ГОСТ 25336
Пинцет	
Стаканы химические с носиком, вместимостью 150 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Стеклянные емкости вместимостью 100 $см^3$ с герметичной металлической крышкой	
Стеклянные палочки	

Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 50
Ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария
Установка для перегонки растворителей
Фильтродержатель
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 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 по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на газовый 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 на 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 газовом 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 газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, приготовление растворов для градуировки и внесения, установление градуировочных характеристик, подготовка фильтров и салфеток для отбора проб, отбор проб.

7.1. Очистка растворителей

7.1.1. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над небольшим количеством $KMnO_4$ и прокаленным карбонатом калия или подвергают ректифика-

ционной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 50.

7.1.2. 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

7.2.1. Подвижная фаза №1

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 600 $см^3$ бидистиллированной или деионизованной воды, 0,5 $см^3$ ортофосфорной кислоты, 400 $см^3$ ацетонитрила, перемешивают, фильтруют и дегазируют. Подвижная фаза №1 используется для для анализа проб воздуха.

7.2.2. Подвижная фаза №2

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 550 $см^3$ бидистиллированной или деионизованной воды, 0,5 $см^3$ ортофосфорной кислоты, 350 $см^3$ ацетонитрила, перемешивают, фильтруют и дегазируют. Подвижная фаза №2 используется для для анализа проб смывов с кожных покровов операторов.

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 пенцикурона для градуировки (концентрация 100 мкг/$см^3$)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,0100 г пенцикурона, растворяют в 50 - 60 $см^3$ ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4-6 °С в течение 3-х месяцев.

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

7.4.2. Раствор № 1 пенцикурона для градуировки и внесения (концентрация 10 мкг/$см^3$)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного раствора пенцикурона с концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п. 7.4.1.), разбавляют ацетонитрилом до метки.

Градуировочный раствор № 1 хранят в холодильнике при температуре 4-6 °С 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 пенцикурона для градуировки (концентрация 0,05– 1,0 мкг/см^3)

В 5 мерных колб вместимостью 100 см^3 помещают по 0,5; 1,0; 2,5; 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. 7.2.1 или п. 7.2.2, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2 - 6 с концентрацией пенцикурона 0.05; 0,1; 0,25; 0,5 и 1,0 мкг/см^3, соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике при температуре 4-6 °С в течение недели.

7.5. Установление градуировочных характеристик

Градуировочные характеристики, выражающие зависимость площади пика (относительные единицы) от концентрации пенцикурона в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 5-ти 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. или п.7.5.1.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Устанавливают площади пиков действующего вещества.

Градуировочный график проверяют ежедневно по анализу 2-х растворов для градуировки различной концентрации. Если значения площадей отличаются более чем на 5,1% 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

Объем вводимой пробы: 20 мм^3

Скорость потока элюента: 0,4 см^3/мин

7.5.1.1 . Воздух рабочей зоны

Подвижная фаза: ацетонитрил-вода-орто-фосфорная кислота (60:40:0.05, по объему)

Рабочая длина волны: 240 нм

Ориентировочное время выхода пенцикурона: 6,4-6,7 мин

7.5.1.2. Смывы с кожных покровов операторов

Подвижная фаза: ацетонитрил-вода-орто-фосфорная кислота (55:45:0.05, по объему)

Рабочая длина волны: 250 нм

Ориентировочное время выхода пенцикурона: 9,5-9,8 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, затем ацетонитрилом 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.

7.6. Подготовка салфеток для проведения смыва

Вырезают салфетки (лоскуты) из белой бязи размером 10х10 см, затем их последовательно обрабатывают 5%-ным раствором углекислого натрия (при кипячении), водой до нейтральной реакции промывных вод, 2-х кратно промывают этиловым спиртом, сушат на воздухе при комнатной температуре. До использования салфетки хранят в герметично закрытой стеклянной таре.

Для оценки квалификации растворителей применительно к задачам подготовки фильтров и салфеток проводят контроль чистоты по процедуре пробоподготовки и измерения, изложенных в п.п.10.1, 10.2 и 7.5.1.

8. Отбор и хранение проб воздуха

Отбор проб осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 «ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны». Воздух с объемным расходом 2 – 4 $дм^3$/мин аспирируют через бумажный фильтр «синяя лента», помещенный в фильтродержатель.

Для измерения концентрации пенцикурона на уровне 0,05 $мг/м^3$ необходимо отобрать 5 $м^3$ воздуха. Срок хранения отобранных проб, помещенных в полиэтиленовые пакеты, в холодильнике при температуре 4-6 °С – 15 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 для удаления загрязнений, фиксируют площадь (не менее 200 $см^2$). При необходимости отбирают фоновые смывы.

Смыв выполняют 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 этот участок сверху вниз. Операцию повторяют дважды.

Срок хранения отобранных проб смывов, помещенных в герметично закрытые емкости, в морозильной камере при температуре ниже -15 °С - 30 дней.

10. Выполнение измерений

10.1. Воздух рабочей зоны

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

Объединенный экстракт переносят (через воронку) в круглодонную колбу, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С почти досуха, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха. Остаток растворяют в 5 $см^3$ подвижной фазы (подготовленной по п. 7.2.1.) и анализируют при условиях хроматографирования, указанных в п. 7.5.1.1.

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

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

11. Обработка результатов анализа

11.1. Воздух рабочей зоны

Концентрацию пенцикурона в пробе воздуха (X), мг/$м^3$, рассчитывают по формуле:

$$X = C \cdot W/V_t, \text{ где}$$

C - концентрация пенцикурона 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), $дм^3$.

$$V_t = R \cdot P \cdot ut/(273+T),$$

где T - температура воздуха при отборе проб (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.

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

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

$$d = d_{отн.} \cdot \overline{X}/100, \text{ мг/м}^3$$

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

$d_{отн.}$ - норматив оперативного контроля сходимости, % (равен 10 %).

11.2. Смывы с кожных покровов

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

$$X = C \cdot W, \text{ где}$$

C - концентрация пенцикурона 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 вещества 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, % ($\pm$ 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.

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

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 пенцикурона в пробе воздуха рабочей зоны – менее 0.05 мг/м^3; смыва – менее 0.1 мкг/смыв»**

** - 0.05 мг/м^3; 0.1 мкг/смыв - преелы 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»).

gost.e-ecolog.ru