Государственная система санитарно-эпидемиологического нормирования Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Сборник методических указаний
МУК 4.1.1802—4.1.1820—03;
4.1.1822—4.1.1826—03

Выпуск 5

Издание официальное

Москва • 2007

217

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации,
Первый заместитель министра здравоохранения
Российской Федерации
Г.Г. Онищенко

18.12.02

МУК 4.1.1825-03

Дата введения: с 1 апреля 2003 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по измерению концентраций флуазинама в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

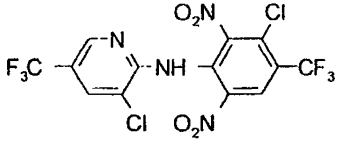
Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воздухе рабочей зоны массовой концентрации флуазинама в диапазонах 0,1 - 1,0 мг/м^3.

Флуазинам - действующее вещество препарата Ширлан, СК (500 г/л)

фирма производитель ИСК БИОСАЙЕНСИС (Бельгия)

3-хлор-N-(3-хлор–5-тирфторметил-2-пиридил)-α,α,α-трифтор-2,6-динитро-р-толуидин (IUPAC)

I



$C_{13}H_4Cl_2F_6N_4O_4$

Мол. масса 465,1

Светло-желтое кристаллическое вещество. Температура плавления 115-117^{0}С. Давление паров при 25^{0}С: 1,5 мПа. Растворимость в органических растворителях при 20^{0}С (г/л): ацетон – 470; гексан – 12; дихлорметан – 330; диэтиловый эфир – 320; толуол – 410; этанол – 150. Растворимость в воде при 25^{0}С - 1,7 мг/л. Вещество стабильно в кислой и щелочной средах, а также при нагревании.

Агрегатное состояние в воздухе рабочей зоны - пары и аэрозоль.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс > 5000мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LK_{50}) для крыс – 0,463 мг/дм^3.

Область применения препарата

Флуазинам - фунгицид защитного действия, обладает слабой системной активностью, используется в качестве средства борьбы с возбудителями фитофтороза и альтернариоза картофеля, эффективен против возбудителей серой гнили на винограде, парши на яблоне, килы на крестоцветных.

Ориентировочно безопасный уровень воздействия (ОБУВ) в воздухе рабочей зоны - 1,0 мг/м^3.

1. Погрешность измерений

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

2. Метод измерения

Измерения концентраций флуазинама выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с ультрафиолетовым детектором.

Концентрирование флуазинама из воздуха осуществляют на последовательно соединенные бумажные фильтры "синяя лента" и фильтры из пенополиуретана, экстракцию с фильтров проводят ацетоном.

Нижний предел измерения в анализируемом объеме пробы – 2 нг.

Определению не мешают компоненты препаративной формы.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы Perkin-Elmer, США)	Номер Госреестра 15945-97
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Пробоотборное устройство ОП-442ТЦ (ЗАО "ОПТЭК",	

г. Санкт-Петербург) или аспирационное устройство ЭА-1	ТУ 25-11-1414-78
Барометр-анероид М-67	ТУ 2504-1797-75
Термометр лабораторный шкальный ТЛ-2, цена деления 1^0С, пределы измерения 0 - 55^0С	ТУ 215-73Е
Колбы мерные вместимостью 100 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные вместимостью 5 или 10 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 50 и 500 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Флуазинам с содержанием действующего вещества не менее 97,8% (Бельгия)	
Ацетон	ГОСТ 2603
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ-6-09-4326-76
Вода бидистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	
Кислота уксусная	
Этиловый спирт	ГОСТ Р 51652

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Бумажные фильтры "синяя лента", обеззоленные	ТУ 6-09-2678-77
Воронки конусные диаметром 30-37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Груша резиновая	
Колбы грушевидные на шлифе вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 10394
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737
Мембранные фильтры капроновые, диаметром 47 мм	
Насос водоструйный	ГОСТ 10696

Пенополиуретан ППУ	ТУ 2254-153-04691277-95
Пробирки центрифужные	ГОСТ 25336
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария	ТУ 25-11-917-74
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 Кромасил 100 С18, зернением 7 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 12.1005-88.

4.2. При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТом 12.1.019-79 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

Перед выполнением измерений проводят очистку ацетонитрила (при необходимости), подготовку подвижной фазы для ВЭЖХ, приготовление растворов, фильтров из пенополиуретана, кондиционирование хроматографических колонок, 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. Очистка ацетона

Растворитель сушат над молекулярными ситами 4А и подвергают фракционной перегонке на ректификационной колонне, целиком собранной из стекла с числом теоретических тарелок не менее 30. Сосуд для перегонки погружают в водяную баню и через приемник пропускают медленно струю сухого азота. Затем температуру водяной бани повышают до 70 - 75^{0}С и прибор промывают парами ацетона, после чего холодильник заполняют водой. До начала отбора главной фракции приемник несколько раз промывают дистиллятом. Перегонку продолжают до тех пор, пока в сосуде для перегонки не останется приблизительно 100 см^3 ацетона. Температуру водяной бани следует снижать по мере уменьшения объема ацетона, во всех случаях она не должна превышать температуру кипения ацетона более чем на 20^0.

7.3. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 4,0 см^3 уксусной кислоты, добавляют 800 см^3 ацетонитрила, доводят до метки бидистиллированной водой, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.4. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (п. 7.2.) в течение 30 минут при скорости подачи растворителя 1,0 $см^3$/мин до установления стабильной базовой линии.

7.5. Приготовление градуировочных растворов

7.5.1. Исходный раствор флуазинама для градуировки (концентрация 1 мг/$см^3$)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,1 г флуазинама, доводят до метки метанолом, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 3-х месяцев.

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

7.5.2. Раствор № 1 флуазинама для градуировки (концентрация 10 мкг/$см^3$)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 1 $см^3$ исходного стандартного раствора флуазинама с концентрацией 1 мг/$см^3$ (п. 7.4.1.), разбавляют метанолом до метки. Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

7.5.3. Рабочие растворы № 2-5 флуазинама для градуировки (концентрация 0.1 - 1.0 мкг/$см^3$) В 4 мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ помещают по 1.0, 2.5, 5.0 и 10.0 $см^3$ стандартного раствора №1 с концентрацией 10 мкг/$см^3$ (п. 7.4.2.), доводят до метки подвижной фазой (подготовленной по п. 7.2.), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2 - 5 с концентрацией флуазинама 0.1, 0.25, 0.5 и 1.0 мкг/$см^3$, соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике в течение недели.

7.6. Приготовление фильтров из пенополиуретана для отбора проб воздуха

Из пенополиуретана вырезают фильтр толщиной 2 –2,5 мм, диаметром 48-50 мм, соответствующим внутреннему диаметру фильтродержателя. Фильтр 3 раза промывают ацетоном порциями 25-30 $см^3$ на воронке Бюхнера, сушат с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, затем на воздухе при комнатной температуре.

7.7. Отбор проб

Отбор проб воздуха 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 3 пробы, для чего воздух

аспирируют в течение 5 минут с объемным расходом 1-5 $дм^3$/мин через последовательно соединенные фильтр "синяя лента" и фильтр из пенополиуретана, помещенные в фильтродержатель.

Для измерения концентрации флуазинама на уровне 0,5 ОБУВ воздуха рабочей зоны необходимо отобрать 1 $дм^3$ воздуха. Срок хранения отобранных проб, помещенных в полиэтиленовые пакеты, в холодильной камере при $+4^0$С - 5 дней.

7.8. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (отн. единицы) от концентрации флуазинама в растворе (мкг/$см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки №№ 2 - 5.

В инжектор хроматографа вводят по 20 $мм^3$ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 7.8.1. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Устанавливают площадь пика флуазинама.

7.8.1. Условия хроматографирования

Измерения выполняют при следующих режимных параметрах:

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором Perkin-Elmer (США)

Колонка стальная длиной 25 см, внутренним диаметром 4,0 мм, содержащая Кромасил 100 С18, зернением 7 мкм.

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: ацетонитрил – вода – уксусная кислота (80:20:0,4, по объему)

Скорость потока элюента: 1,0 $см^3$/мин

Рабочая длина волны: 258 нм

Чувствительность: 0,01 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$

Ориентировочное время выхода флуазинама: 5,9 - 6,1 мин

Линейный диапазон детектирования: 2 - 20 нг

Образцы, дающие пики, большие, чем стандартный раствор флуазинама с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой (подготовленной по п. 7.3).

Градуировочный график проверяют ежедневно по анализу 2-х стандартных растворов различной концентрации. Если значения площади отличаются более, чем на 6 % от данных, заложенных в градуировочную характеристику, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие стандартные растворы.

8. Выполнение измерений

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

Объединенный экстракт упаривают в грушевидной колбе на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35^{0}С почти досуха, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха, остаток растворяют в 5 $см^3$ подвижной фазы (подготовленной по п. 7.3.) и анализируют при условиях хроматографирования, указанных в п. 7.8.1.

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

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

9. Обработка результатов измерений

Массовую концентрацию флуазинама в пробе воздуха рабочей зоны X, $мг/м^3$, рассчитывают по формуле:

$$X = C * W/V_{20}, \text{ где}$$

C - концентрация флуазинама 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_{20} - объем пробы воздуха, отобранный для анализа, приведенный к стандартным (давление 760 мм рт.ст., температура 20° С) условиям

$$V_{20} = 0{,}386 * P * ut/(273+T),$$

где Т - 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.

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

10. Оформление результатов измерений

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

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

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

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

Результат количественного анализа представляют в виде:

- результат анализа $\overline{X}$ ($мг/м^3$), характеристика погрешности δ, %, P = 0,95 или $\overline{X} \pm \Delta$ $мг/м^3$, P = 0,95, где

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \overline{X}}{100}, \text{ мг/м}^3$$

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

11. Контроль погрешности измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с рекомендациями МИ 2335-95. ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа.

12. Разработчики

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