Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методика измерений массовой доли синтетических ингибиторов фосфодиэстеразы-5 (тадалафила, варденафила и силденафила) в биологически активных добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым и масс-спектрометрическим детектированием

Методические указания
МУК 4.1.3331—16

Издание официальное

Москва • 2016

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методика измерений массовой доли синтетических ингибиторов фосфодиэстеразы-5 (тадалафила, варденафила и силденафила) в биологически активных добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым и масс-спектрометрическим детектированием

Методические указания
МУК 4.1.3331—16

ББК 51.23
М54

М54 **Методика** измерений массовой доли синтетических ингибиторов фосфодиэстеразы-5 (тадалафила, варденафила и силденафила) в биологически активных добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым и масс-спектрометрическим детектированием: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016.—22 с.

ISBN 978—5—7508—1484—8

1. Разработаны ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (В. А. Тутельян, К. И. Эллер, В. В. Бессонов, И. Б. Перова, А. А. Жогова, А. П. Воробьев) и ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» (С. В. Орлова, О. Г. Потанина, С. В. Горяинов, Е. А. Никитина, В. А. Ивлев, Г. А. Калабин).

2. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 15 февраля 2016 г.

3. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1484—8

© Роспотребнадзор, 2016
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
15 февраля 2016 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методика измерений массовой доли синтетических ингибиторов фосфодиэстеразы-5 (тадалафила, варденафила и силденафила) в биологически активных добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым и масс-спектрометрическим детектированием

Методические указания
МУК 4.1.3331—16

1. Область применения

1.1. Настоящие методические указания (далее – МУК) предназначены для органов и организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, осуществляющих контроль качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов, находящихся в обращении на территории Российской Федерации, в том числе импортируемых в Российскую Федерацию, а также могут быть использованы другими испытательными лабораториями (центрами), осуществляющими контроль качества и безопасности биологически активных добавок к пище, аккредитованными в соответствии с требованиями Федерального закона от 28.12.2013 № 412-ФЗ «Об аккредитации в национальной системе аккредитации».

1.2. Настоящие МУК распространяются на исследования недекларированного добавления синтетических ингибиторов фосфодиэстеразы-5 (тадалафила, варденафила и силденафила) в некоторых биологически активных добавках к пище и носят рекомендательный характер.

2. Общие положения

Настоящие МУК устанавливают порядок определения синтетических ингибиторов фосфодиэстеразы-5 (тадалафила, варденафила и силденафила) в биологически активных добавках к пище (далее – БАД) к пище методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее – ВЭЖХ) с УФ-спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием в диапазоне измерений от 0,2 до 50 мг/г.

3. Краткая характеристика тадалафила, силденафила и варденафила

Общепринятые названия:

Тадалафил CAS №: 171596-29-5;

Силденафила цитрат CAS №: 171599-83-0;

Варденафила гидрохлорид CAS №: 330808-88-3.

Химические названия и структурные формулы веществ:

1. Тадалафил – (6R,12aR)-6-(1,3-Бензодиоксол-5-ил)-2-метил-2,3,6,7,12,-12а-гексагидро-2-метилпиразино[1',2':1,6]пиридо[3,4-b]индол-1,4-дион.

Структурная формула (рис. 1);

2. Силденафил – (1-[[3-(6,7-Дигидро-1-метил-7-оксо-3-пропил-1Н-пиразоло[4,3-альфа]пиримидин-5-ил)-4-этоксифенил] сульфонил]пиперазин (в форме цитрата).

Структурная формула (рис. 2);

3. Варденафил – 1-[[3-(1,4-Дигидро-5-метил-4-оксо-7-пропилимидазо[5,1-f][1,2,4]триазин-2-ил)-4-этоксифенил]сульфонил]-4-этилпиперазин (в форме моногидрохлорида).

Структурная формула (рис. 3).

Тадалафил, силденафил, варденафил - фармацевтические препараты, предназначенные для лечения эректильной дисфункции и являющиеся селективными ингибиторами специфической фосфодиэстеразы типа 5 (ФДЭ5) циклического гуанозин монофосфата (цГМФ).

Данные фармацевтические препараты рекомендуется применять по назначению врача после сбора полного анамнеза и проведения тщательного урологического и общеклинического обследования, особенно у больных с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями, а также для исключения взаимодействия с другими принимаемыми пациентом фармацевтическими препаратами (в частности, органическими нитратами).

Существует проблема фальсификации, связанная с возможным недекларированным присутствием тадалафила, силденафила и варденафила в некоторых БАД.

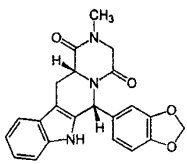


Рис. 1. Структурная формула тадалафила

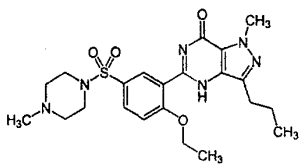


Рис. 2. Структурная формула силденафила

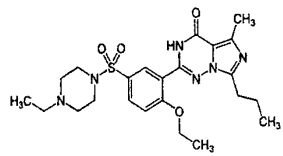


Рис. 3. Структурная формула варденафила

Физические свойства: тадалафил, силденафил и варденафил представляют собой белые кристаллические порошки с температурой плавления 276—279 °С, 185—187 °С и 191—193 °С соответственно. Тадалафил, силденафил и варденафил хорошо растворяются в метаноле.

УФ-спектр тадалафила в метанольном растворе характеризуется максимумом поглощения при длине волны 284 и 291 нм. Спектр метанольного раствора стандарта тадалафила приведен на рис. 4. Молекулярная масса тадалафила 389,4 г/моль, молярная экстинкция при максимуме поглощения $\varepsilon = 16\ 500$ л × моль$^{-1}$ × см$^{-1}$.

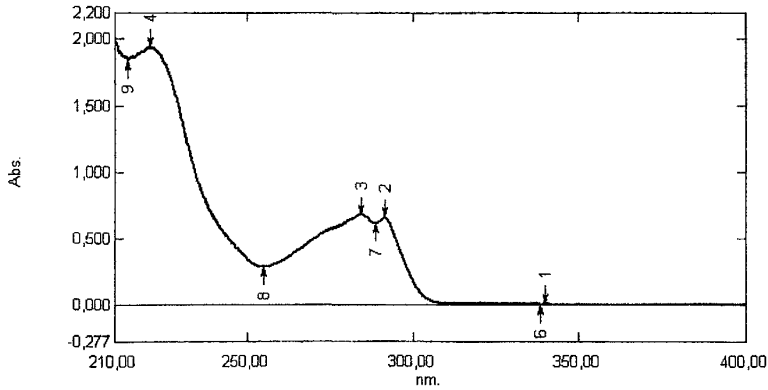


Рис. 4. УФ-спектр раствора тадалафила в метаноле с концентрацией 16,0 мкг/мл

УФ-спектр силденафила (в форме цитрата) в метанольном растворе характеризуется максимумом поглощения при длине волны 292 нм. Спектр метанольного раствора стандарта силденафила приведен на рис. 5. Молекулярная масса силденафила 474,6 г/моль (силденафила

цитрата 666,7 г/моль), молярная экстинкция при максимуме поглощения $\varepsilon = 13\ 800$ л × моль$^{-1}$ × см$^{-1}$.

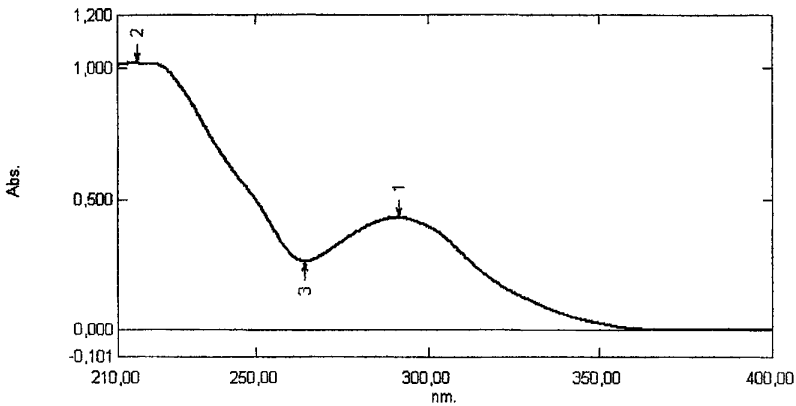


Рис. 5. УФ-спектр раствора силденафила в метаноле с концентрацией 14,7 мкг/мл

УФ-спектр варденафила (в форме гидрохлорида) в метанольном растворе характеризуется максимумом поглощения при длине волны 242 нм. Спектр метанольного раствора стандарта варденафила приведен на рис. 6. Молекулярная масса варденафила 488,6 г/моль (варденафила гидрохлорида 524,1 г/моль), молярная экстинкция при длине волны $\lambda = 285$ нм $\varepsilon = 8\ 610$ л × моль$^{-1}$ × см$^{-1}$.

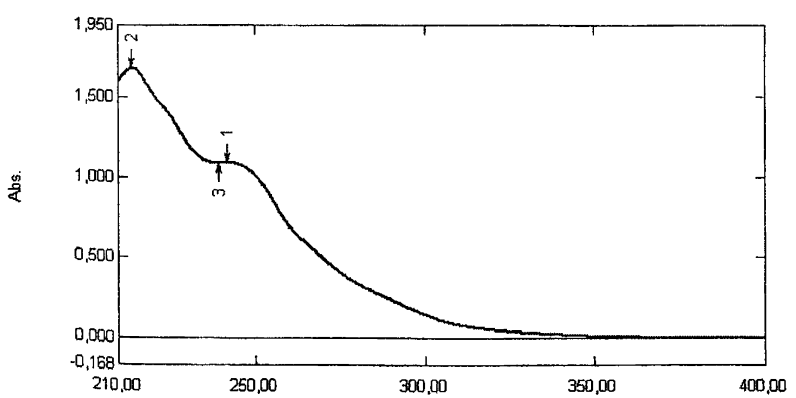


Рис. 6. УФ-спектр раствора варденафила в метаноле с концентрацией 16,0 мкг/мл

4. Определение тадалафила, силденафила и варденафила методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием

4.1. Основные положения

4.1.1. Принцип метода.

Методика основана на определении тадалафила (далее – ТДЛ), силденафила (далее – СЛД) и варденафила (далее – ВРД) методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее – ВЭЖХ) с УФ-спектрофотометрическим детектором с подтверждением структуры с помощью масс-селективного детектора.

4.1.2. Метрологические характеристики метода для указанного диапазона концентраций тадалафила, силденафила и варденафила в пробе приведены в табл. 1.

Таблица 1

Определяемое вещество	Диапазон измеряемых концентраций, мг/г	Характеристика погрешности, $P = 0,95$), $\pm \delta$,%	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r,%	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), R, %	Средняя полнота извлечения вещества, %
Тадалафил	0,2—50,0	± 25 %	2,4	3,4	6,7	9,4	92,5
Силденафил	0,2—50,0	± 25 %	2,4	3,3	6,6	9,2	93,0
Варденафил	0,2—50,0	± 25 %	2,4	3,3	6,8	9,3	94,2

4.2. Реактивы

Тадалафил (стандарт, не менее 99 %)
Силденафила цитрат (стандарт, не менее 98 %)
Варденафила гидрохлорид (стандарт, не менее 90 %)

Метанол для ВЭЖХ	
Ацетонитрил для ВЭЖХ	
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—72
Раствор формиата аммония 5М или формиат – аммония квалификации ХЧ	

4.3. Средства измерений, испытательное оборудование и лабораторная посуда

Система жидкостной хроматографии, оснащенная насосом, УФ-спектрофотометрическим детектором на диодной матрице и масс-детектором	
Хроматографическая колонка для обращенно-фазовой хроматографии с силикагелем, химически связанным с октадецилсиланом (линейные размеры 250 мм × 4,6 мм, размер частиц 5 мкм)	
Центрифуга для пробирок объемом не менее 1,5 $см^3$ и относительной силой центрифугирования (RCF) не менее 10 000	
Ультразвуковая водяная баня	
pH-метр	
Весы лабораторные аналитические с наибольшим пределом взвешивания 110 г и дискретностью 0,0001 г, класс точности специальный (I)	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные наливные объемом 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Стаканы вместимостью 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Цилиндры мерные лабораторные с носиком 2-го класса точности вместимостью 100 и 500 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки 1-2-2-1, 1-2-2-2, 1-2-2-5	ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1-81)
Автоматические пипетки с переменным объемом 0,1—1,0 $см^3$	
Полимерные пробирки объемом 1,5 $см^3$ с герметичной крышкой	

4.4. Отбор проб

Для учета специфики отбора проб отдельных видов продуктов следует руководствоваться действующей нормативно-технической документацией по отбору проб для определения токсичных элементов для каждого конкретного вида продукции.

4.5. Подготовка к определению

4.5.1. Приготовление раствора стандарта тадалафила

Навеску тадалафила (20 ± 1) мг (здесь и далее: точная навеска) помещают в мерную колбу на 100 см^3, добавляют 70 см^3 метанола, перемешивают до полного растворения, доводят объем до метки метанолом и перемешивают, получая раствор хранения с концентрацией 200 мкг/мл.

Приготовленный раствор хранят при температуре 5—8 °С в течение 6 месяцев.

4.5.2. Приготовление рабочего раствора стандарта тадалафила с концентрацией 20 мкг/см^3 (срок хранения 14 дней)

Мерной пипеткой переносят 5 см^3 раствора хранения стандарта тадалафила в мерную колбу на 50 см^3, доводят объем до метки метанолом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят при температуре 5—8 °С в течение не более 2 недель. Концентрацию рабочего раствора подтверждают с помощью УФ-спектрофотометрии, используя коэффициент молярной экстинкции при λ = 284 нм:

$$Cm = \frac{D}{\varepsilon} \text{ (моль/л), где}$$

D – оптическая плотность раствора; ε – коэффициент молярной экстинкции тадалафила (16 500 л × моль$^{-1}$ × см$^{-1}$).

Пересчет на концентрацию C в мг/л проводится по формуле:

$C = Cm \cdot 1\,000 \cdot 389{,}4$ (в упрощенном виде $C = 23{,}6 \cdot D$, мг/л).

4.5.3. Приготовление раствора стандарта силденафила

Навеску силденафила цитрата (28 ± 1) мг (соответствует 20 мг силденафила) помещают в мерную колбу на 50 см^3, добавляют 30 см^3 метанола, перемешивают до полного растворения, доводят объем до метки метанолом и перемешивают, получая раствор хранения с концентрацией 400 мкг/мл.

Приготовленный раствор хранят при температуре 5—8 °С в течение не более 6 месяцев.

4.5.4. Приготовление рабочего раствора стандарта силденафила с концентрацией 40 мкг/см^3 (срок хранения 14 дней)

Мерной пипеткой переносят 5 см^3 раствора хранения стандарта силденафила в мерную колбу на 50 см^3, доводят объем до метки метанолом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят при температуре 5—8 °С в течение не более 2 недель. Концентрацию рабочего раствора подтверждают с помощью УФ-спектрофотометрии, используя коэффициент молярной экстинкции при $\lambda = 292$ нм.

Расчет концентрации рабочего раствора проводят аналогично п. 4.5.2.

При величине коэффициента молярной экстинкции для силденафила $\varepsilon = 13\ 800$ л × моль$^{-1}$ × см$^{-1}$ и молекулярной массе 474,6 г/моль концентрация рабочего раствора равна:

$$C = 34{,}4 \cdot D \text{ (мг/л)}$$

4.5.5. Приготовление стандартного раствора варденафила

Навеску варденафила гидрохлорида (24 ± 1) мг (соответствует 20 мг варденафила) помещают в мерную колбу на 50 см^3, добавляют 30 см^3 метанола, перемешивают до полного растворения, доводят объем до метки метанолом и перемешивают, получая раствор хранения с концентрацией 400 мкг/мл.

Приготовленный раствор хранят при температуре 5—8 °С в течение не более 6 месяцев.

4.5.6. Приготовление рабочего раствора стандарта варденафила с концентрацией 40 мкг/см^3 (срок хранения 14 дней)

Мерной пипеткой переносят 5 см^3 раствора хранения стандарта варденафила в мерную колбу на 50 см^3, доводят объем до метки метанолом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят при температуре 5—8 °С в течение не более 2 недель.

Расчет концентрации рабочего раствора проводят аналогично п. 4.5.2.

При величине коэффициента молярной экстинкции для варденафила $\varepsilon = 8\ 610$ л × моль$^{-1}$ × см$^{-1}$ и молекулярной массе 488,6 г/моль концентрация рабочего раствора равна:

$$C = 56{,}7 \cdot D \text{ (мг/л)}$$

4.5.7. Приготовление подвижной фазы

Для приготовления раствора формиата аммония с концентрацией 10 ммоль в стакан объемом 500 $см^3$ отмеривают 400 $см^3$ воды дистиллированной и, тщательно перемешивая, прибавляют 1,0 $см^3$ 5М раствора формиата аммония. Содержимое переносят в мерную колбу на 500 $см^3$, доводят водой дистиллированной до метки и перемешивают.

При использовании формиата аммония квалификации ХЧ навеску массой 630 мг переносят в мерную колбу объемом 1 000 $см^3$, доводят водой дистиллированной до метки и тщательно перемешивают до полного растворения навески.

Для приготовления подвижной фазы в мерную колбу объемом 1 000 $см^3$ отмеривают 400 $см^3$ раствора формиата аммония с концентрацией 10 ммоль и, тщательно перемешивая, добавляют 600 $см^3$ ацетонитрила до метки. Подвижную фазу фильтруют под вакуумом с применением мембранного фильтра с диаметром пор 0,45 μм.

Примечание. При необходимости допускается корректировка соотношения компонентов подвижной фазы с целью обеспечения удовлетворительного разрешения.

4.5.8. Подготовка образца к анализу

При анализе БАД таблетированные формы (5 таблеток) подвергают измельчению, в случае капсулированных препаратов содержимое 5 капсул извлекают из оболочки (при необходимости оболочки капсул измельчают и добавляют к содержимому капсул). Таким же способом можно подвергнуть анализу сырье для производства БАД или оболочки капсул (5—10 капсул). На анализ берется навеска усредненного образца, соответствующая массе 1,0 г. После взвешивания навеску пробы помещают в мерную колбу на 100 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ смеси метанол : вода (6 : 4, v : v) (объем V). Экстракцию проводят на ультразвуковой бане при комнатной температуре в течение 20 мин. Отбирают 1,5 $см^3$ экстракта в центрифужную пробирку. Пробирку центрифугируют в течение 10 мин с относительной силой центрифугирования (RCF) не менее 10 000. Надосадочную жидкость анализируют с помощью ВЭЖХ.

Примечание. В случае высоких концентраций ингибиторов ФДЭ-5 («зашкаливание» на хроматограмме) из объема V (100 $см^3$) отбирают аликвоту в 10 $см^3$ и разбавляют смесью метанол : вода (6 : 4, v : v) в N раз. Разбавление учитывают в конечной формуле расчета концентрации (п. 4.7).

4.6. Обнаружение и количественное определение

4.6.1. Условия проведения ВЭЖХ

Условия проведения ВЭЖХ приведены в табл. 2.

Таблица 2

Параметр	Значение
Насос:	
– состав подвижной фазы*	водный раствор формиата аммония с концентрацией 10 ммоль (40 %) – ацетонитрил (60 %)
– режим элюирования	изократическое элюирование
– скорость потока	0,5 $см^3$/мин
Инжектор	
– объем ввода	0,010 $см^3$
Термостат колонок	
– температура	30 °С
Детектирование	диодно-матричное спектрофотометрическое при $\lambda = 284$ нм и $\lambda = 292$ нм
Хроматографические характеристики методики	
– примерное время удерживания, мин (t_R)	около 8 мин (тадалафил) около 10 мин (варденафил) около 11 мин (силденафил)
* При необходимости допускается корректировка соотношения компонентов подвижной фазы с целью обеспечения удовлетворительного разрешения	

4.6.2. Условия детектирования на времяпролетном масс-спектрометрическом детекторе

Условия детектирования на времяпролетном масс-спектрометрическом детекторе приведены в табл. 3.

Таблица 3

Параметр	Значение
Рабочие параметры:	
– температура колонки, °С	30
– объем вводимой пробы, $см^3$	0,010
Сканирование масс:	
– источник ионизации	электростатическое распыление
– режим работы	регистрация положительных ионов
– диапазон детектируемых масс веществ, Да	200—1 200
– детектируемые массы, Да	390.1, 475.2 и 489.2
– напряжение на капилляре, кВ	3,5
– поток газа-осушителя (азот), л/мин	5,0
– температура газа, °С	325
– давление на распылителе, МПа	0,207

4.6.3. Условия детектирования на тройном квадрупольном масс-спектрометрическом детекторе

Условия детектирования на тройном квадрупольном масс-спектрометрическом детекторе приведены в табл. 4.

Таблица 4

Параметр	Значение
Источник ионизации	электростатическое распыление
Температура колонки, °С	30
Объем вводимой пробы, $см^3$	0,010
Напряжение на капилляре, кВ	3,5
Поток газа-осушителя (азот), л/мин	9,0
Температура газа, °С	325
Давление на распылителе, МПа	0,207
Температура квадруполей, °С	200
Напряжение на фрагменторе	135 В
Дочерние ионы, Да	268,0 – для тадалафила, 312,1 – для варденафила и 100,1 – для силденафила
Энергия разрушения, В	9 – для тадалафила, 35 – для варденафила и 45 – для силденафила
Скорость сканирования, скан/с	10

4.6.4. Идентификация ТДЛ, СЛД и ВРД

Идентификацию компонентов на хроматограмме осуществляют путем сравнения с абсолютным временем удерживания, УФ-спектрами и массами (характеристичными «переходами») соответствующих стандартов.

Типичные хроматограммы и масс-спектры приведены на рис. 7—11.

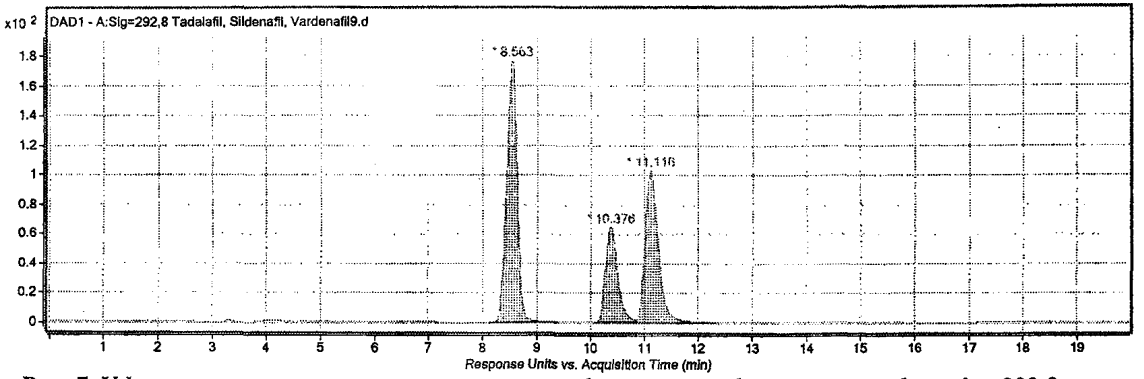


Рис. 7. УФ-хроматограмма смеси стандартов тадалафила, варденафила и силденафила, λ = 292,8 нм (колонка Protecol HPH125-C18, 250 × 4,6 мм, размер частиц 5 мкм)

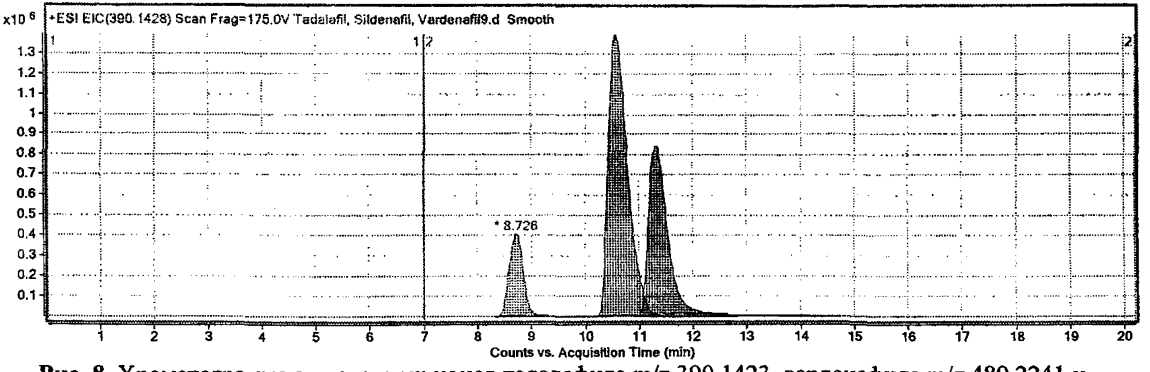


Рис. 8. Хроматограмма выделенных ионов тадалафила m/z 390.1423, варденафила m/z 489.2241 и силденафила m/z 475.2085 (колонка Protecol HPH125-C18, 250 × 4,6 мм, размер частиц 5 мкм)

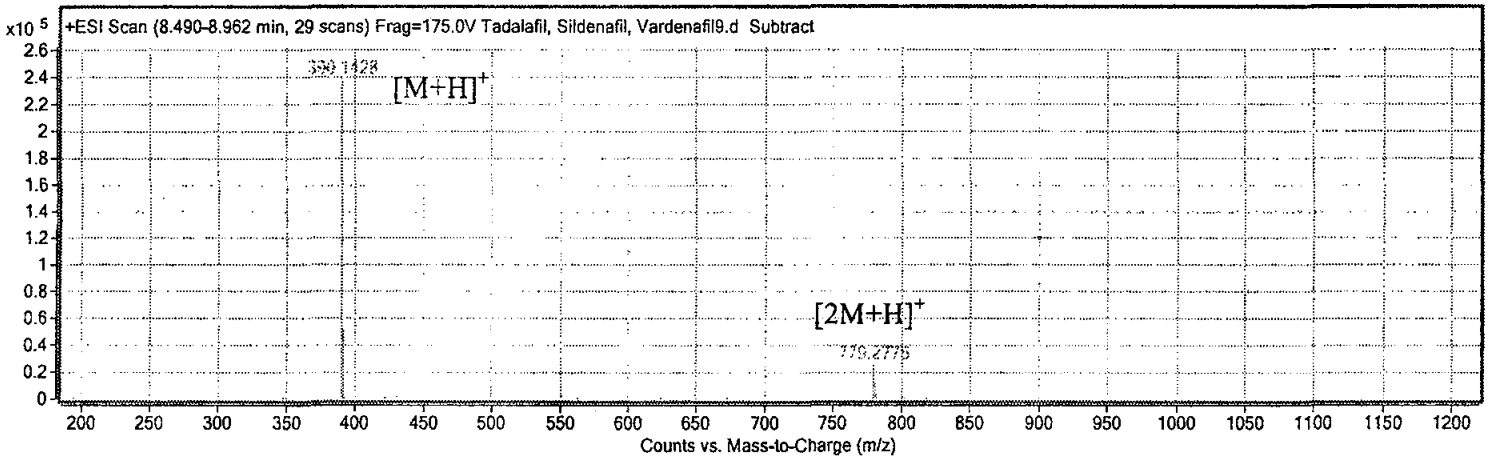


Рис. 9. Масс-спектр ионизации электрораспылением тадалафила

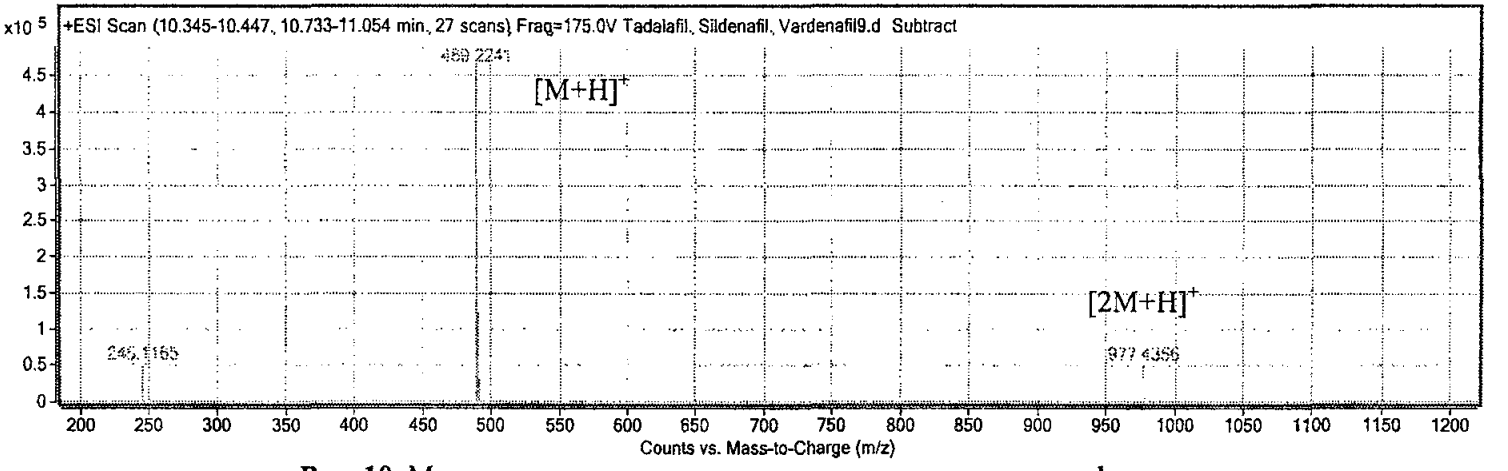


Рис. 10. Масс-спектр ионизации электрораспылением варденафила

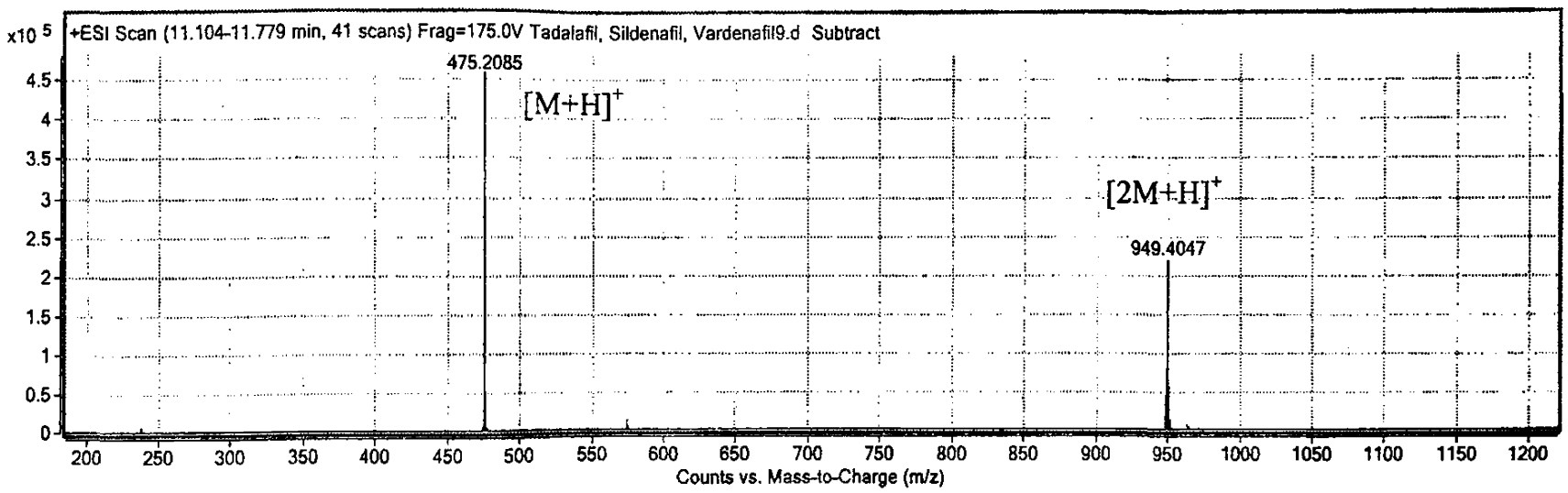


Рис. 11. Масс-спектр ионизации электрораспылением силденафила

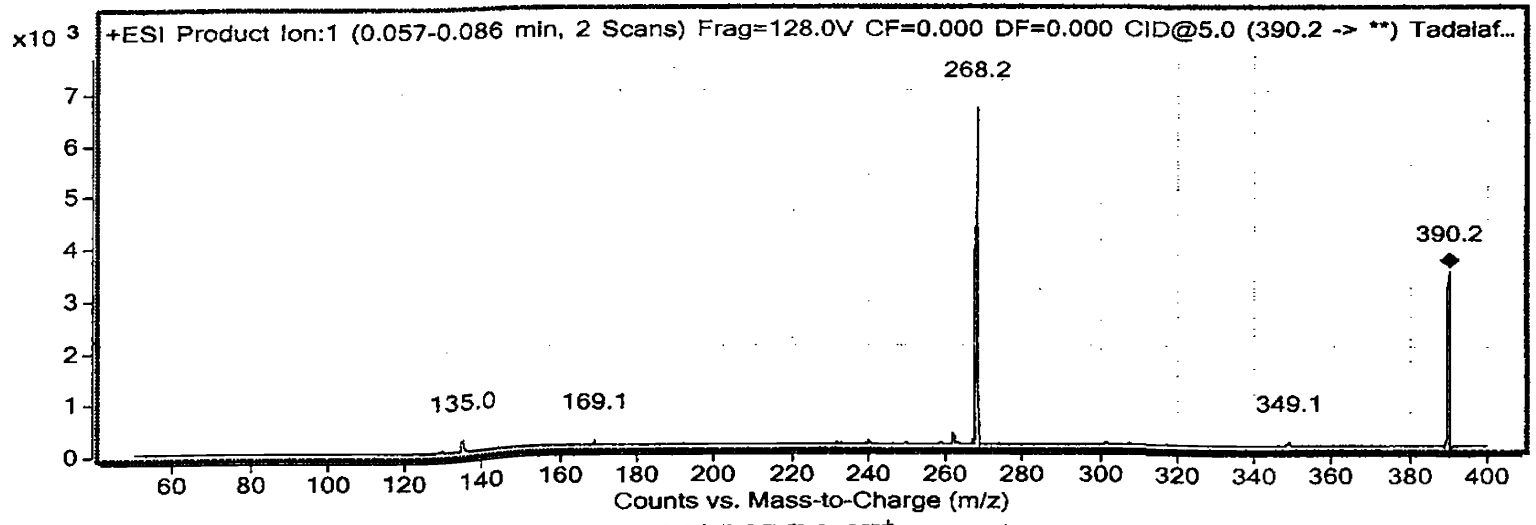


Рис. 12. Спектр МС/МС $[M+H]^+$ тадалафила

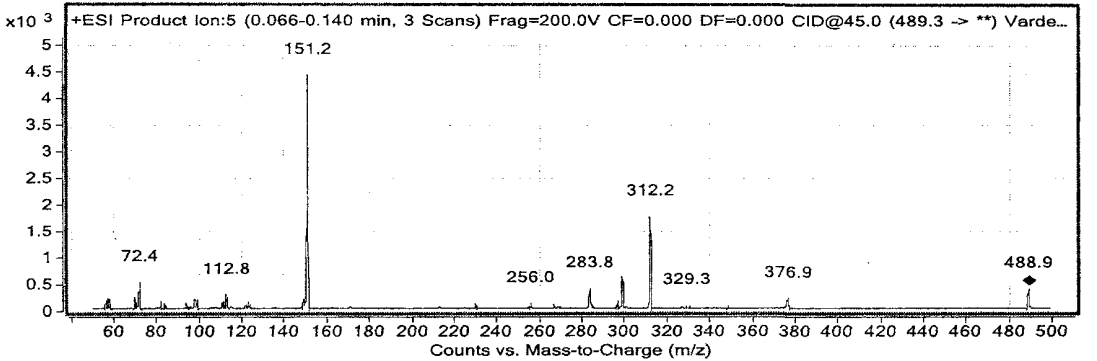


Рис. 13. Спектр МС/МС $[M+H]^+$ варденафила

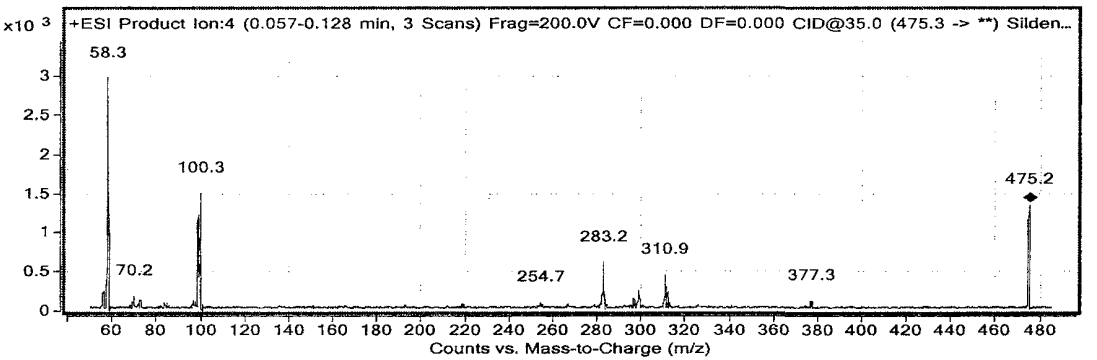


Рис. 14. Спектр МС/МС $[M+H]^+$ силденафила

4.7. Обработка результатов измерения

Расчет содержания в образце ТДЛ, СЛД и ВРД проводят по формуле:

$$X = \frac{S_{ТДЛ\ (ВРД,\ СЛД)} \cdot C \cdot V \cdot N}{m_{навески} \cdot S_{стд}}, \text{ где}$$

X – количество ТДЛ, СЛД или ВРД в образце, мг/г;

$S_{ТДЛ\ (ВРД,\ СЛД)}$ – площадь ТДЛ, СЛД или ВРД в образце, полученная с помощью УФ-спектрофотометрического детектора;

$S_{стд}$ – площадь стандарта ТЛД, СЛД или ВРД, полученная с помощью УФ-спектрофотометрического детектора;

V – объем раствора пробы, см^3;

C – концентрация стандарта ТЛД, СЛД или ВРД, мг/см^3;

$m_{навески}$ – навеска образца, взятая на анализ, г;

N – коэффициент разбавления пробы.

Результат анализа представляют в виде:

$(X \pm \Delta)$ мг/г при вероятности $P = 0{,}95$, где

X – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X}{100}, \text{ где}$$

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

В случае, если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

«*содержание вещества в пробе менее 0,2 мг/г*».*

* – 0,2 мг/г – предел обнаружения.

4.8. Контроль результатов измерений

4.8.1. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

Определение содержания тадалафила, силденафила и варденафила в каждом образце проводится в 2 параллельных измерениях. Вывод о допустимости расхождения между параллельными измерениями определяют на основании предела повторяемости (r) по формуле:

$$\frac{2\cdot|X_1 - X_2|\cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le r \text{ , где}$$

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/г.

При превышении расчетного значения предела повторяемости (r) измерение следует провести заново, используя свежеприготовленную пробу.

4.8.2. Проверка лабораторной воспроизводимости

Вывод о допустимости расхождения между разными лабораторными измерениями одной и той же пробы определяют на основании предела воспроизводимости (R) по формуле:

$$\frac{2\cdot|X_1 - X_2|\cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le R \text{ , где}$$

X_1, X_2 – результаты разных лабораторных определений, мг/г.

При превышении расчетного значения предела воспроизводимости (R) измерение следует провести заново, используя новую пробу.

4.8.3. Оперативный контроль проведения измерения с использованием метода добавок

Периодичность контроля погрешности измерений зависит от количества рабочих измерений за контролируемый период и определяется планами контроля.

Образцами контроля являются рабочие пробы БАД к пище (содержащие тадалафил (силденафил или варденафил) в концентрации не менее нижнего предела количественного определения. Пробу разделяют на две равные части. Одну оставляют без изменений, а к другой добавляют стандартный раствор тадалафила (силденафила или варденафила) в таком количестве, чтобы его массовая доля увеличилась на 50—100 %. Добавка должна вводиться в пробу перед началом пробоподготовки.

Обе пробы анализируют в точном соответствии с прописью методики и получают результаты анализа исходной пробы и пробы с добавкой.

Алгоритм проведения оперативного контроля погрешности с использованием метода добавок состоит в сравнении результата контрольного определения, равного разности между результатом контрольного измерения пробы с добавкой ($C'_{рк}$), пробы без добавки ($C_{рк}$) и величиной добавки ($C_{добрк}$) с нормативом оперативного контроля (K). Норматив оперативного контроля (K) рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{(C_{рк} \cdot \sigma)^2 + (C'_{рк} \cdot \sigma)^2}$$

Решение об удовлетворительной погрешности принимается при выполнении следующего условия:

$$| C'_{проба} - C_{проба} - C_{доб}| \leq K$$

При превышении норматива оперативного контроля погрешности эксперимент повторяют с использованием другой пробы.

5. Интерпретация результатов анализа

Метод ВЭЖХ-УФ-спектрофотометрии предоставляет необходимый предел обнаружения и достаточную селективность анализа. При получении отрицательных результатов ВЭЖХ-УФ-анализа образец рассматривается как свободный от наличия остатков тадалафила, силденафила или варденафила.

При положительных результатах ВЭЖХ-УФ-анализа необходимо обязательное подтверждение наличия тадалафила, силденафила или варденафила с помощью ВЭЖХ-масс-спектрометрии.

6. Требования к квалификации персонала

К выполнению измерений и обработке их результатов допускают специалистов, имеющих высшее или среднее специальное образование, имеющих опыт работы в химическо-аналитической лаборатории, владеющих методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и навыками в области хроматомасс-спектрометрии.

7. Требования охраны труда

При выполнении анализов необходимо соблюдать требования охраны труда при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76 и ГОСТ 12.4.103—83.

Помещение, в котором проводят анализы, должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией по ГОСТ 12.4.021—75.

Электробезопасность при работе с электроустановками – по ГОСТ 12.2.007.0—75 и по ГОСТ Р 12.1.019—2009.

Организация обучения работающих безопасности труда – по постановлению Минтруда РФ и Минобразования РФ от 13 января 2003 г. № 1/29 «Об утверждении Порядка обучения по охране труда и проверки знаний требований охраны труда работников организаций».

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по постановлению Правительства РФ от 25 апреля 2012 г. № 390 «О противопожарном режиме» и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005—88.

8. Условия проведения измерений

Условия измерений (температура, влажность, напряжение сети, атмосферное давление и пр.) должны соответствовать требованиям, изложенным в паспортах или иных документах на используемое оборудование, материалы и реактивы.

9. Список использованной литературы

1. Федеральный закон от 30.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».

2. СП 1.1.1058—01 «Организация и проведение производственного контроля за соблюдением санитарных правил и выполнением санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

3. СП 1.1.2193—07 «Изменения и дополнения к СП 1.1.1058—01 «Организация и проведение производственного контроля за соблюдением санитарных правил и выполнением санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

4. СанПиН 2.3.2.1290—03 «Гигиенические требования к организации производства и оборота биологически активных добавок к пище (БАД)».

5. ГОСТ Р 8.563—2009 ГСИ. Методики (методы) измерений.

6. ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения.

7. ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений.

8. ГОСТ Р ИСО 5725-5—2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 5. Альтернативные методы определения прецизионности стандартного метода измерений.

9. Tadalafil (англ.). Drugs.com.

10. Тадалафил. Энциклопедия лекарств и товаров аптечного ассортимента. РЛС Патент. Инструкция, применение и формула.

11. Sildenafil, Tadalafil, Vardenafil - Labels updated with NAION information. FDA Statement. United States Food and Drug Administration, 8 July 2005 (англ.). WHO Pharmaceuticals Newsletter 2005, No. 03.

Методика измерений массовой доли синтетических ингибиторов фосфодиэстеразы-5 (тадалафила, варденафила и силденафила) в биологически активных добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым и масс-спектрометрическим детектированием

Методические указания
МУК 4.1.3331—16

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 15.04.16

Формат 60x84/16 Печ. л. 1,5
Тираж 115 экз. Заказ 32

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
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а

Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru