УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации

Г. Г. Онищенко
29 июня 2003 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение массовых концентраций [1S-[1α,3α,7β,8β(2S*,4S*),8αβ]]-1,2,3,7,8,8α - гексагидро-3,7-диметил-8-[2(тетрагидро-4-гидрокси-6-оксо-2Н-пиран-2ил)этил]-1-нафталенил 2,2-диметилбутаноата (симвастатин) в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

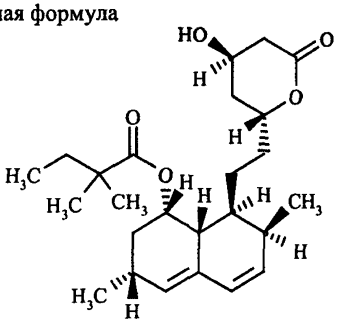
Методические указания МУК 4.1.1620—03

1. Область применения

Настоящие методические указания устанавливают количественный анализ воздуха рабочей зоны на содержание симвастатина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в диапазоне массовых концентраций 0,015—0,300 мг/м^3.

2. Характеристика вещества

2.1. Структурная формула



2.2. Эмпирическая формула $C_{25}H_{38}O_5$.

gost.e-ecolog.ru

2.3. Молекулярная масса 418,58.

2.4. Регистрационный номер CAS 79902-63-9.

2.5. Физико-химические свойства.

Симвастатин – белый или не совсем белый кристаллический порошок. Температура плавления 135—138 °С. Практически нерастворим в воде, растворим в растворе калия фосфата с ацетонитрилом, хорошо растворим в хлороформе, метиловом и этиловом спиртах.

Агрегатное состояние в воздухе – аэрозоль.

2.6. Токсикологическая характеристика.

Симвастатин – сердечно-сосудистый гиполипидемический препарат, обладает гипохолестеринемическим, иммунотоксическим, гонадотропным, кожно-резорбтивным, кожно-раздражающим, общетоксическим (оказывает влияние на функцию печени и почек) действием. При длительном воздействии может вызвать мышечную слабость, ригидность мышц, миалгию.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) симвастатина в воздухе рабочей зоны 0,03 мг/м^3; класс опасности – первый.

3. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений массовых концентраций симвастатина с погрешностью, не превышающей ± 20 %, при доверительной вероятности 0,95.

4. Метод измерений

Измерения массовой концентрации симвастатина выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением УФ-детектора.

Измерение проводят при длине волны 238 нм.

Отбор проб проводят с концентрированием на фильтр.

Нижний предел измерения содержания симвастатина в хроматографируемом объеме пробы (10 мм^3) – 0,03 мкг.

Нижний предел измерения массовой концентрации симвастатина в воздухе – 0,015 мг/м^3 (при отборе 1 000 дм^3 воздуха).

Метод специфичен в условиях производства таблеток симвастатина.

Определению не мешают крахмал картофельный, целлюлоза микрокристаллическая, лактоза, магний стеариново-кислый.

5. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы и растворы

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы и растворы.

5.1. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы

Хроматограф жидкостный высокого давления фирмы Шимадзу SPD-MSA PHOTODIODE ARRAV с УФ-детектором	
Хроматографическая колонка размером 150 × 4 мм, заполненная обращённо-фазовым сорбентом «CROMASILL C_{18}» с размером частиц 5 мкм	
Весы лабораторные ВЛА-200	ГОСТ 24104—88Е
Аспирационное устройство, ПУ-3Э/220 НПФ «НОРД-ЭКОЛОГИЯ ХИМАВТОМАТИКА»	ТУ ЕВКН 4.471.000
Фильтры АФА-ВП-20 с фильтродержателем	ТУ 52-01-367—80
Фильтры типа «Миллипор» или «Владипор», диаметр пор 0,45 мкм	ТУ 6-05-221-433—79
Фильтры бумажные обеззоленные «белая лента», диаметром 5,5 см	ТУ 6-09-1678—77
Колбы мерные, вместимостью 25, 50, 100, 500, 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—71Е
Пипетки, вместимостью 1, 2, 5, 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Пробирки мерные с пришлифованными пробками, вместимостью 10 $см^3$	ГОСТ 25336—82Е
Бюксы химические стеклянные с пришлифованными крышками, вместимостью 25 $см^3$	ГОСТ 25336—82Е
Стаканы химические, вместимостью 25, 50, 100 $см^3$	ГОСТ 25336—82Е
Воронки химические, диаметром 30 мм	ГОСТ 25336—82
Секундомер	ГОСТ 5072—79
Палочки стеклянные	ГОСТ 25336—82Е
Цилиндры мерные, вместимостью 10, 250, 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74Е
Баня ультразвуковая, фирмы «Шимадзу»	
Лупа измерительная	ГОСТ 8309—75
Линейка измерительная металлическая	ГОСТ 427—75
Дистиллятор	ТУ 61-1-721—79

5.2. Реактивы, растворы

Симвастатин, с содержанием основного вещества не менее 99 % в пересчете на сухое вещество. Фармакопея США, 24 изд., 2001	
Ацетонитрил, фирмы «Мерк» (ФРГ), для хроматографии	
Фосфат калия однозамещенный, хч	ГОСТ 4196—65
Кислота ортофосфорная, хч, плотность 1,87 $см^3$, 0,1 %-й раствор	ГОСТ 6552—80
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—72

Допускается применение иных средств измерений, вспомогательных устройств, реактивов и материалов с техническими, метрологическими характеристиками и квалификацией, не хуже приведенных в данном разделе.

6. Требования безопасности

6.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005—88.

6.2. При проведении анализов горючих и вредных веществ должны соблюдаться меры противопожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91.

6.3. При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа высокого давления соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкции по эксплуатации прибора.

7. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются лица с высшим или средним специальным образованием, прошедшие обучение и имеющие навыки работы на жидкостном хроматографе высокого давления.

8. Условия измерения

8.1. Процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят в нормальных условиях при температуре воздуха (20 ± 5) °С, атмосферном давлении 84—106 кПа и относительной влажности воздуха не более 80 %.

8.2. Выполнение измерений на жидкостном хроматографе высокого давления проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

9. Подготовка к выполнению измерений

Перед выполнением измерений проводят следующие работы: приготовление растворов, подготовку жидкостного хроматографа высокого давления, установление градуировочной характеристики, отбор проб.

9.1. Приготовление растворов

9.1.1. Основной стандартный раствор симвастатина с концентрацией 500 мкг/см^3 готовят растворением 0,0500 г вещества в растворе калия фосфата с ацетонитрилом в мерной колбе, вместимостью 100 см^3. Рас-

твор помещают в ультразвуковую баню на 5 мин, перемешивают и хранят в течение 7 суток в холодильнике.

9.1.2. Стандартный раствор симвастатина № 1 с концентрацией 100 мкг/см^3 готовят разбавлением 5 см^3 основного стандартного раствора раствором калия фосфата с ацетонитрилом в мерной колбе, вместимостью 25 см^3. Раствор применяют свежеприготовленным.

9.1.3. Стандартный раствор симвастатина № 2 с концентрацией 30 мкг/см^3 готовят разбавлением 15 см^3 стандартного раствора № 1 раствором калия фосфата с ацетонитрилом в мерной колбе, вместимостью 50 см^3. Раствор применяют свежеприготовленным.

9.1.4. 0,1 %-й водный раствор кислоты ортофосфорной. В мерную колбу, вместимостью 500 см^3 приливают 300 см^3 дистиллированной воды, добавляют 0,294 см^3 концентрированной фосфорной кислоты (плотность 1,70), доводят объём раствора дистиллированной водой до 500 см^3 и перемешивают. Раствор устойчив 7 суток.

9.1.5. 0,1 %-й раствор кислоты ортофосфорной в ацетонитриле. В мерную колбу вместимостью 500 см^3 приливают 300 см^3 ацетонитрила, добавляют 0,294 см^3 концентрированной фосфорной кислоты (плотность 1,70), доводят объём раствора ацетонитрилом до 500 см^3 и перемешивают. Раствор устойчив 7 суток.

Элюент: 0,1 %-й раствор кислоты ортофосфорной, 0,1 %-й раствор кислоты ортофосфорной в ацетонитриле и ацетонитрил в соотношении 7 : 5 : 5 (по объему). Непосредственно перед измерением раствор фильтруют с помощью фильтров типа «Миллипор» или «Владипор» и дегазируют пропусканием гелия в течение 15 мин.

Растворитель: смесь раствора калия фосфата однозамещенного (А) и ацетонитрила (В).

А. Раствор калия фосфата однозамещенного. В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 0,7 г калия фосфата однозамещенного, прибавляют 300 см^3 дистиллированной воды, взбалтывают, доводят pH кислотой ортофосфорной до 4,0 ± 0,02, после чего доводят объём раствора дистиллированной водой до 500 см^3 и перемешивают. Раствор устойчив 7 суток.

В. Ацетонитрил А : В = 40 : 60 (по объёму). Непосредственно перед измерением в мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 200 см^3 раствора А, прибавляют раствор В (ацетонитрил) до 500 см^3 и перемешивают. Затем раствор фильтруют с помощью фильтров типа «Миллипор» или «Владипор» и дегазируют пропусканием гелия в течение 15 мин.

9.2. Подготовка прибора

Подготовку к работе жидкостного хроматографа высокого давления проводят в соответствии с руководством по его эксплуатации.

9.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость величины хроматографического сигнала (в приборных единицах) от массы симвастатина в хроматографируемом объеме пробы, устанавливают по методу абсолютной калибровки с использованием 6 серий градуировочных растворов из 5 параллельных определений для каждой серии, согласно табл. 1.

Растворы применяют свежеприготовленными.

Таблица 1

Растворы для установления градуировочной характеристики при определении симвастатина

Номер стандарта	Стандартный раствор симвастатина № 1, $см^3$	Стандартный раствор симвастатина № 2, $см^3$	Раствор калия фосфата с ацетонитрилом, $см^3$	Массовая концентрация симвастатина в градуировочном растворе, $мкг/см^3$	Содержание симвастатина в хроматографируемом объеме, мкг
1	0,00	0,0	5,00	0,00	0,00
2	0,00	0,5	4,50	3,00	0,03
3	0,00	1,0	4,00	6,00	0,06
4	0,50	0,0	4,50	10,0	0,10
5	1,00	0,0	4,00	20,0	0,20
6	1,50	0,0	3,50	30,0	0,30
7	3,00	0,0	2,00	60,0	0,60

Условия хроматографирования градуировочных смесей и анализируемых проб:

температура термостата колонки 20 °С;

скорость подачи элюента 1,8 $см^3$/мин;

чувствительность измерения детектора 0,1 ABS;

длина волны УФ-детектора 238 нм;

скорость движения диаграммной ленты 4,55 мм/мин;

максимальный объем вводимой пробы 10 $мм^3$;

время удерживания симвастатина 9 мин 8 с;

эффективность колонки не менее 2 000 т.т.

Проверку градуировочного графика проводят не реже 1 раза в месяц или в случае использования новой партии реактивов или после ремонта прибора.

9.4. Отбор пробы воздуха

Воздух с объёмным расходом 100 дм^3/мин аспирируют через фильтр АФА-ВП-20, помещенный в фильтродержатель. Для измерения ПДК симвастатина следует отобрать 1 000 дм^3 воздуха. Отобранные пробы могут храниться в течение недели в бюксах с пришлифованными крышками.

10. Выполнение измерения

Фильтр с отобранной пробой переносят в химический бюкс с пришлифованной крышкой, вместимостью 25 см^3, приливают 5 см^3 раствора калия фосфата с ацетонитрилом, помещают в ультразвуковую баню и оставляют на 15 мин. Затем фильтр тщательно отжимают стеклянной палочкой и удаляют. Полученный раствор перемешивают, фильтруют на химической воронке через бумажный фильтр «белая лента» в мерную пробирку с пришлифованной пробкой, вместимостью 10 см^3, доводят до 5 см^3 раствором калия фосфата с ацетонитрилом и помещают в ультразвуковую баню на 5 мин. Степень десорбции вещества с фильтра 98 %.

Хроматографирование анализируемых растворов проб проводят в тех же условиях, что и при построении градуировочной характеристики.

Количественное определение содержания симвастатина (мкг) в хроматографируемом объеме раствора пробы проводят по предварительно построенному градуировочному графику.

Примечание. Анализируемый раствор фильтруют для удаления нерастворимых в растворе калия фосфата с ацетонитрилом вспомогательных веществ, присутствующих в таблетках симвастатина.

11. Вычисление результатов измерений

Массовую концентрацию симвастатина (C, мг/м^3) в воздухе вычисляют по формуле:

$$C = \frac{a \cdot b}{б \cdot V}, \text{ где}$$

a – содержание симвастатина в хроматографируемом объёме раствора, найденное по градуировочному графику, мкг;

$в$ – общий объём раствора пробы, см^3;

$б$ – хроматографируемый объем раствора, см^3;

V – объём воздуха, отобранного для анализа (дм^3) и приведенного к стандартным условиям (см. прилож. 1).

12. Оформление результатов анализа

Результат количественного анализа представляют в виде $(C \pm \Delta)$ мг/м^3, $P = 0{,}95$. Значение $\Delta = 0{,}0003 + 0{,}20C$ мг/м^3, где Δ – характеристика погрешности.

13. Контроль погрешности методики КХА

Значения характеристики погрешности, норматива оперативного контроля погрешности и норматива оперативного контроля воспроизводимости приведены в табл. 2.

Таблица 2

Диапазон определяемых массовых концентраций симвастатина, мг/м^3	Наименование метрологической характеристики		
	Характеристика погрешности, Δ, мг/м^3 ($P = 0,95$)	Норматив оперативного контроля погрешности, K, мг/м^3 ($P = 0,90$, m = 3)	Норматив оперативного контроля воспроизводимости, D, мг/м^3 ($P = 0,95$, $m = 2$)
0,015—0,300	$0,0003 + 0,20C$	$0,00040 + 0,21C$	$0,0011 + 0,31C$

Метрологические характеристики приведены в виде зависимости от значения массовой концентрации анализируемого компонента в пробе – C.

13.1. Оперативный контроль погрешности

Оперативный контроль погрешности выполняют в одной серии с КХА рабочих проб.

Образцами для контроля являются реальные пробы воздуха рабочей зоны. Объем отобранной для контроля пробы должен соответствовать удвоенному объему, необходимому для проведения анализа по методике. После отбора пробы экстракт с фильтра делят на две равные части, первую из которых анализируют в точном соответствии с прописью методики и получают результат анализа исходной рабочей пробы – C_1. Вторую часть разбавляют соответствующим растворителем в два раза и снова делят на две равные части, первую из которых анализируют в точном соответствии с прописью методики, получая результат анализа рабочей пробы, разбавленной в два раза, – C_2. Во вторую часть делают добавку анализируемого компонента (X) до массовой концентрации исходной рабочей пробы (C_1) – общая концентрация не должна превышать верхнюю границу диапазона измерения – и анализируют в точном соответствии с прописью методики, получая результат анализа рабочей пробы, разбавленной в два раза, с добавкой – C_3. Результаты анализа исходной рабочей пробы – C_1, рабочей пробы, разбавленной в два раза, – C_2, и рабочей пробы, разбавленной в два раза, с добавкой – C_3, получают по возможности в одинаковых условиях, т. е. их получает один аналитик с использованием одного набора мерной посуды, одной партии реактивов и т. д.

Решение об удовлетворительной погрешности принимают при выполнении условия:

$$|C_3 - C_2 - X| + |2C_2 - C_1| \le K, \text{ где}$$

C_1 – результат анализа рабочей пробы;

C_2 – результат анализа рабочей пробы, разбавленной в два раза;

C_3 – результат анализа рабочей пробы, разбавленной в два раза, с добавкой анализируемого компонента;

X – величина добавки анализируемого компонента;

K – норматив оперативного контроля погрешности.

$$K = 0{,}00040 + 0{,}21C \text{ (мг/м}^3\text{)}$$

13.2. Оперативный контроль воспроизводимости

Образцами для контроля являются реальные пробы воздуха рабочей зоны.

Объем отобранной для контроля пробы должен соответствовать удвоенному объему, необходимому для проведения анализа по методике. После отбора пробы экстракт с фильтра делят на две равные части и анализируют в точном соответствии с прописью методики, максимально варьируя условия проведения анализа, т. е. получают два результата анализа в разных лабораториях или в одной, используя при этом разные наборы мерной посуды, разные партии реактивов. Два результата анализа не должны отличаться друг от друга на величину допускаемых расхождений между результатами анализа:

$$| C_1 - C_2 | \le D, \text{ где}$$

C_1 – результат анализа рабочей пробы;

C_2 – результат анализа этой же пробы, полученной в другой лаборатории или в этой же, но другим аналитиком с использованием другого набора мерной посуды и другой партии реактивов;

D – допустимые расхождения между результатами анализа одной и той же пробы.

$$D = 0{,}0011 + 0{,}31C \text{ (мг/м}^3\text{)}$$

При превышении норматива оперативного контроля воспроизводимости эксперимент повторяют. При повторном превышении указанного норматива D выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля и устраняют их.

14. Нормы затрат времени на анализ

Для проведения серии анализов из 6 проб требуется 5 ч.

Методические указания разработаны Государственным унитарным предприятием «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ» (В. П. Жестков, А. П. Крымов, В. Ф. Алещенко, Л. И. Крымова).

gost.e-ecolog.ru