

На правах рукописи

ФЕДОРЧУК ВИКТОРИЯ АНАТОЛЬЕВНА

**ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
СТРЕПТОМИЦИНА И ЛЕВОМИЦЕТИНА В
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ И ПИЩЕВЫХ
ПРОДУКТАХ**

02.00.02 – аналитическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Томск – 2003

Работа выполнена на кафедре физической и аналитической химии Томского политехнического университета

Научный руководитель

Кандидат химических наук,
Слепченко Г. Б.

Официальные оппоненты

Доктор химических наук,
профессор Марьянов Б. М.

Кандидат химических наук,
Джабарова Н. К.

Ведущая организация – Кубанский государственный университет, г. Краснодар

Защита диссертации состоится “26” декабря 2003 г. в 16³⁰ часов
на заседании диссертационного совета Д. 212.269.04 при Томском
политехническом университете (634050, г. Томск, пр. Ленина, 30)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Томского политехнического
университета по адресу: ул. Белинского, 53

Автореферат разослан “ 26 ” ноября 2003 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук, доцент

Гиндуллина Т. М.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В связи с возрастающими требованиями к качеству выпускаемых лекарственных средств высокочувствительное и экспрессное определение антибиотиков составляет важную часть контроля лекарственных препаратов на соответствие фармакопейным или иным аналогичным стандартам. В то же время приобретает все большее значение проблема отрицательного влияния на здоровье человека остаточных количеств антибиотиков, присутствующих в пищевых продуктах. Встречающиеся в пище антибиотики могут иметь различное происхождение, чаще всего они попадают в продукты животноводства при использовании их для профилактики и лечения заболеваний домашних животных. Допустимые уровни содержания антибиотиков в продуктах питания регламентируются медико-биологическими требованиями и санитарными нормами качества. В соответствии с требованиями остаточные количества антибиотиков в молочных, мясных продуктах и яйце не должны превышать 0,5 и 0,01 мкг/г для стрептомицина и левомецетина соответственно. Такие низкие концентрации можно обнаружить только с помощью высокочувствительных современных методов.

Среди всех методов анализа антибиотиков в основном преобладают микробиологические, которые, как правило, не обладают достаточной чувствительностью и позволяют проводить лишь качественный или полуколичественный анализ.

Использование метода вольтамперометрии в контроле качества лекарственных препаратов и пищевых продуктов обусловлено простотой аппаратуры, техники измерений, высокой чувствительностью и экспрессностью.

Настоящая работа направлена на установление оптимальных условий вольтамперометрического определения стрептомицина и левомецетина с целью разработки экспрессных и высокочувствительных методик контроля антибиотиков в сложных по составу объектах.

Цель работы. Исследовать вольтамперометрическое поведение стрептомицина и левомицетина и разработать методики их количественного определения в лекарственных препаратах и некоторых пищевых продуктах.

Научная новизна.

- Впервые показана способность антибиотиков стрептомицина и левомицетина восстанавливаться на ртутно-пленочном электроде и установлены условия проведения электродного процесса.
- Впервые рассчитаны некоторые физико-химические параметры электродной реакции с участием стрептомицина (αn , k_s , n), имеющих аналитическое значение.
- Впервые предложено математическое описание формы аналитического сигнала стрептомицина на ртутно-пленочном электроде с целью повышения разрешающей способности метода.
- Впервые установлены условия и разработан алгоритм подготовки проб пищевых продуктов для последующего определения содержания остаточных количеств стрептомицина и левомицетина вольтамперометрическим методом.
- Впервые разработаны методики количественного химического анализа проб лекарственных препаратов (таблетки, глазные капли, порошки для инъекций) и молочных продуктов на содержание стрептомицина и левомицетина методом вольтамперометрии с использованием ртутно-пленочного электрода.
- Методики определения левомицетина в лекарственных препаратах и молочных продуктах метрологически аттестованы, зарегистрированы в Федеральном Реестре МВИ и внедрены в ряде учреждений России и Украины.

Практическое значение. Разработанные методики определения содержания антибиотиков являются экспрессными и недорогими по сравнению с известными микробиологическими и могут быть использованы в техническом

анализе лекарственных средств и для контроля качества готового продукта, а также воздушной зоны химико-фармацевтических предприятий.

Предложенные методики позволяют экспрессно (за 2-3 часа) определить остаточные количества стрептомицина и левомицетина в молоке. Это очень важно для эффективной работы контрольно-аналитических лабораторий.

Предложенный способ количественного определения антибиотиков может быть использован для разработки методик количественного химического анализа стрептомицина и левомицетина в биосистемах (кровь, моча и др.) для проведения фармакокинетических исследований.

На защиту выносятся следующие положения:

- Влияние различных факторов (E_0 , τ_0 , pH, w , режима регистрации вольтамперограмм) на потенциал и величину тока восстановления антибиотиков.
- Математическое описание формы аналитического сигнала стрептомицина.
- Результаты по определению некоторых физико-химических параметров электродной реакции с участием стрептомицина (α_n , k_s , n), имеющих аналитическое значение.
- Методики количественного определения стрептомицина и левомицетина в лекарственных препаратах (глазные капли, таблетки, порошки для инъекций) и пищевых продуктах (молоко и молочные продукты).

Апробация работы. Основные результаты работы в период выполнения докладывались и обсуждались на российских конференциях и симпозиумах: симпозиуме “Теория электроаналитической химии и метод ИВА” (Томск, 2000); VI конференции “Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (Новосибирск 2000); всероссийской конференции “Актуальные проблемы аналитической химии” (Москва 2002); научно-практической конференции “Химия и технология лекарственных препаратов и полупродуктов” (Новокузнецк, 2002); региональной научно-практической конференции «Технология органических веществ и высокомолекулярных соединений»

(Томск 2003), а также на научных семинарах кафедры физической и аналитической химии Томского политехнического университета.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе 2 статьи в рецензируемых журналах, 3 статьи в трудах симпозиумов и конференций, 2 тезисов докладов и получен 1 патент на изобретение РФ.

Структура диссертации. Работа объемом 130 страниц компьютерного текста, включая 28 рисунков и 14 таблиц, состоит из введения, пяти глав, выводов и приложения. Список литературы содержит 148 библиографических названий работ отечественных и зарубежных авторов.

В первой главе представлен литературный обзор по физико-химическим методам исследования стрептомицина и левомицетина и описанию формы пиков в вольтамперометрии. На основании обзора формируются задачи исследования. Описание используемой аппаратуры, типов электродов, методики проведения эксперимента приведены во второй главе. Третья глава посвящена установлению условий оптимизации электровосстановления стрептомицина и левомицетина. В четвертой главе приведены данные исследований природы тока и механизма восстановления стрептомицина методами циклической вольтамперометрии, вольтамперометрии с использованием вращающегося дискового электрода. Определены некоторые физико-химические параметры, представляющие теоретический и практический интерес. Изложению результатов опытов по оценке предела обнаружения и нижней границы определяемых содержаний антибиотиков, взаимного влияния веществ и разработке методик количественного определения стрептомицина и левомицетина в лекарственных препаратах и некоторых пищевых продуктах посвящена пятая глава. Анализ полученных экспериментальных данных приведен в обсуждении результатов. В заключении сделаны выводы. В приложении представлены свидетельства, программа метрологической аттестации и акты о внедрении результатов работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Выбор условий оптимизации вольтамперометрического определения стрептомицина и левомицетина

С целью разработки методик вольтамперометрического анализа лекарственных препаратов и пищевых продуктов установлены условия их количественного определения.

В качестве индикаторного использовали ртутно – пленочный электрод.

С целью выбора оптимального фонового электролита использовали ряд веществ. Установлено, что при определении низких концентраций антибиотика лучшим фоновым электролитом является 0,01 М NaOH, на фоне которого регистрируются четко выраженные вольтамперограммы с хорошей воспроизводимостью, относительное стандартное отклонение (S_r) при этом не превышает 0,06. Линейная зависимость градуировочных графиков сохраняется в диапазоне концентраций стрептомицина $10^{-8} \div 10^{-6}$ моль/л (0,05 ÷ 1,50 мг/л) (рис. 1). При определении концентраций стрептомицина более чем $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л можно использовать и другие растворы электролитов: буфер Бриттона-Робинсона (pH 8 - 11), 0,1 М Na_2HPO_4 , 0,05 М NaClO_4 , буфер $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 - \text{NaOH}$ (pH 11), 0,1 М Na_3PO_4 .

Для количественного определения левомицетина оптимальным фоновым электролитом является 0,1 М сульфат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (рис. 2), который одновременно является хорошим осадителем белковых примесей в пищевых продуктах. Линейность градуировочных графиков на указанных фонах сохраняется в диапазоне концентраций левомицетина $9,3 \cdot 10^{-9} \div 1,0 \cdot 10^{-7}$ моль/л (3,0 ÷ 30,0 мкг/л). Относительное стандартное отклонение для указанного диапазона концентраций изменяется от 0,20 до 0,08.

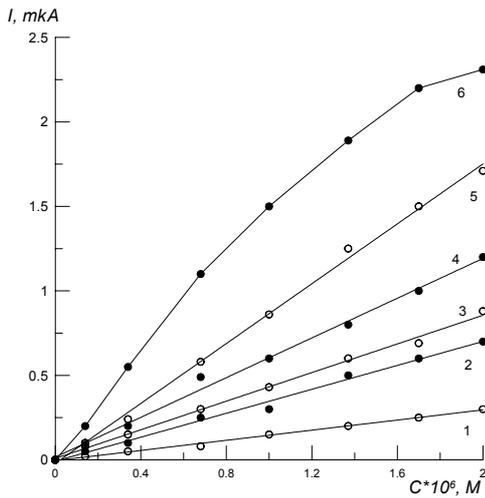


Рис. 1. Зависимость величины тока восстановления стрептомицина от концентрации на фонах: буфер Бриттона-Робинсона (1); $0,1 \text{ M Na}_2\text{HPO}_4$ (2); $0,05 \text{ M NaClO}_4$ (3); буфер $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 - \text{NaOH}$ pH 11 (4); $0,1 \text{ M Na}_3\text{PO}_4$ (5); $0,01 \text{ M NaOH}$ (6); $t_3 = 30 \text{ с}$.

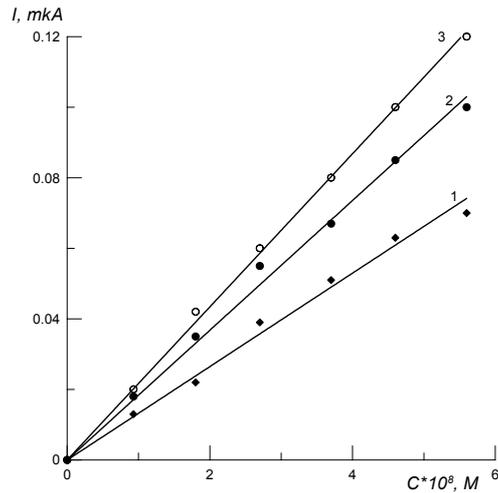


Рис. 2. Зависимость величины тока восстановления левомицетина от концентрации на фонах: $0,1 \text{ M KCl}$ (1); $0,1 \text{ M C}_6\text{H}_{14}\text{O}_7\text{N}_2$ pH $4,7 \div 5,1$ (2); $0,1 \text{ M (NH}_4)_2\text{SO}_4$ (3); $t_3 = 30 \text{ с}$.

Важным фактором при определении органических веществ является pH среды, который оказывает влияние не только на скорость электродного процесса, но и на его механизм. Зависимость потенциала катодного тока стрептомицина от pH представлена на рис. 3. Увеличение pH среды приводило к смещению потенциала в сторону более отрицательных значений, т. е. к затруднению процесса восстановления стрептомицина, что, по-видимому,

связано с предшествующей протолитической реакцией депротонизации протонированных форм стрептомицина.

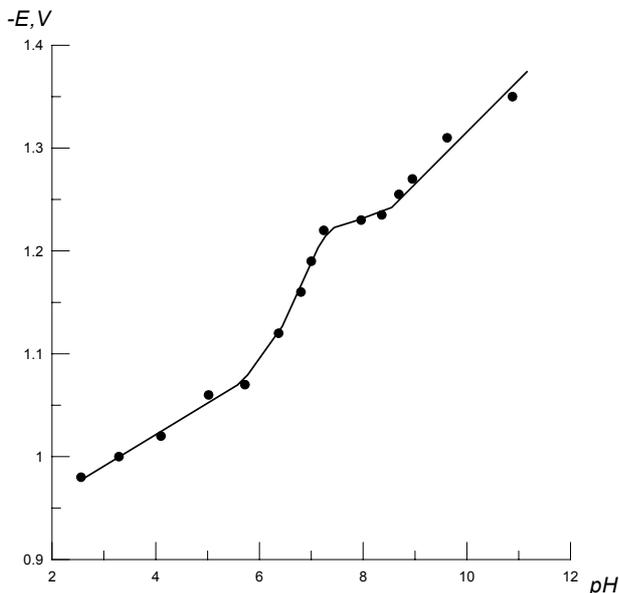


Рис. 3. Зависимость потенциала максимума катодного пика стрептомицина от pH. Фон: буфер Бриттона-Робинсона; $C_{cm} = 2,7 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$; $w = 50 \text{ мВ/с}$, $\tau_3 = 30 \text{ с}$.

В водных растворах стрептомицин может существовать в форме заряженных трех-, двух- и одновалентных катионов (BH_3^{3+} , BH_2^{2+} , BH^+) в зависимости от pH среды. С увеличением pH возможен распад трехосновной кислоты BH_3^{3+} с образованием двухзарядных катионов, которые восстанавливаются при большем отрицательном значении потенциала:

$BH_3^{3+} \longrightarrow BH_2^{2+}$. При высоких значениях pH (более 9,2) разряду подвергаются двухзарядные ионы. Потенциал восстановления также смещается в отрицательную область значений. В очень щелочных растворах, pH которых более 9,8, затрудняется регистрация вольтамперограмм, поэтому в качестве оптимального значения pH для количественного определения стрептомицина в водных растворах рекомендуем использовать значения 9,0 ÷ 9,5. Оптимальным значением pH при определении левомицетина является 4,5 ÷ 5,0.

При регистрации вольтамперограмм стрептомицина и левомицетина оптимальными являются скорости изменения потенциала (w) соответственно 40 – 50 и 10 – 25 мВ/с. При более высоких скоростях чувствительность повышается, но при этом увеличивается остаточный ток, использование меньших скоростей существенно снижает величину катодных токов антибиотиков. Тангенс угла наклона градуировочных графиков стрептомицина максимален при дифференциально-импульсном режиме регистрации вольтамперограмм. Поэтому для количественного определения стрептомицина рекомендован вариант дифференциально-импульсной вольтамперометрии. Для записи вольтамперных кривых левомицетина также использовали дифференциальный режим, который позволяет регистрировать четкие и воспроизводимые пики.

Ток восстановления стрептомицина слабо зависит от потенциала предварительного электролиза. Величина тока достигает максимального значения в области потенциалов $-1,2 \div -1,3$ В на фоне 0,01 М NaOH. Потенциал электрохимического накопления левомицетина составляет $-0,45 \div -0,47$ В. При потенциалах $-0,45 < E_{эл} < -0,47$ уменьшается величина

тока восстановления левомицетина, кроме того, при $E_{эл} < -0,47$ В возникает большой остаточный ток, связанный с выделением водорода в кислых растворах и уменьшается высота пика.

Время предварительного электролиза для диапазона концентраций антибиотиков $3,0 \div 50,0$ мкг/л не превышает 180 с, при этом зависимость величины тока восстановления от концентрации линейна. При концентрации более 50,0 мкг/л наблюдается отклонение от линейности зависимости $I - \tau$, что, по-видимому, связано с полным насыщением поверхности электрода.

Сделана оценка предела обнаружения (C_{min}) с использованием 3σ -критерия, и нижней границы определяемых содержаний (C_n), которые равны $3,2 \cdot 10^{-11}$ и $7,5 \cdot 10^{-11}$ моль/дм³ и $4,0 \cdot 10^{-9}$ и $6,0 \cdot 10^{-9}$ моль/дм³ для стрептомицина и левомицетина соответственно.

Использование оптимальных значений τ и E , позволяет регистрировать вольтамперограммы стрептомицина и левомицетина с четко выраженным максимумом. Это приводит к повышению точности и разрешающей способности метода и позволяет экспрессно определять антибиотики на уровне $7,5 \cdot 10^{-11}$ и $6,0 \cdot 10^{-9}$ моль/л соответственно для стрептомицина и левомицетина, что на 2–3 порядка ниже по сравнению с известными методами, применяющимися в настоящее время при анализе антибиотиков в сложных по составу смесях.

Исследование электродных процессов восстановления стрептомицина

При низких концентрациях деполяризатора на вольтамперограмме присутствует практически один пик восстановления стрептомицина, однако при увеличении концентрации антибиотика в растворе регистрируются два пика, близко расположенных друг к другу. Для разделения сложного пика на составляющие широко используют математический подход, при этом форму экспериментального пика описывают различными математическими функциями.

Сравнение экспериментальных наружных ветвей налагающихся пиков с тремя элементарными функциями (Гаусса, производной логисты и Коши) показало, что форма наружных ветвей практически точно описывается функцией Гаусса: $i = I \cdot e^{-[\delta \cdot (E - E_m)]^2}$ где I – высота пика, E_m – положение максимума, δ – полуширина полупика.

На рис. 4 изображен двойной пик стрептомицина после нормирования к единице по высоте и к нулю по потенциалу относительно первого пика. На рисунке дано разъяснение величин, используемых в последующих формулах.

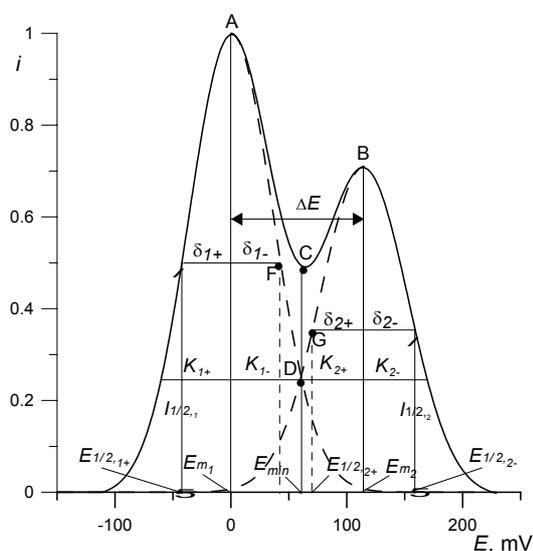


Рис. 4. Схематическое изображение двойного пика стрептомицина с указанием обозначений, используемых в тексте. Координаты выделенных точек: А (0, I_1); В (E_{m2} , I_2); С (E_{\min} , i_{\min}); D (E_{\min} , $1/2 i_{\min}$); F ($E_{1/2,1-}$, $I_{1/2,1}$); G ($E_{1/2,2+}$, $I_{1/2,2}$).

С помощью уравнения Гаусса, найдены значения полуширины полупика наружных ветвей первого (δ_{1+}) и второго (δ_{2-}) пиков:

$$\delta_{1+} = \frac{1}{E_{1/2,1+}} \sqrt{\ln 2} = \frac{0.8326}{E_{1/2,1+}} \quad \delta_{2-} = \frac{0.8326}{E_{1/2,2-}}$$

Полуширину полупиков внутренних ветвей рассчитали по формулам:

$$\delta_{1-} = E_{1/2,1-} = \frac{0.8326}{K_{1-}} \quad \delta_{2+} = VE - \frac{0.8326}{K_{2+}}$$

Значения коэффициентов K и δ приведены в таблице 1, из которой видно, что оба пика являются несимметричными, поэтому для описания контура двойного пика использована функция бигаусса (БГ), когда каждая ветвь описывается уравнением Гаусса со своим значением полуширины.

Таблица 1.

Значения K и δ для четырех ветвей двойного пика стрептомицина при четырех концентрациях (C_{CM}).

Ветвь \ C_{CM} , мг/дм ³	0,5		4,0		10,0		16,0	
	K	δ	K	δ	K	δ	K	δ
1 ₊	0,0196	42,47	0,0193	43,14	0,0179	46,51	0,0179	46,51
1 ₋	0,0194	42,91	0,0181	46,01	0,0176	47,31	0,0176	47,31
2 ₊	0,0236	35,28	0,0212	39,27	0,0204	40,81	0,0204	40,89
2 ₋	0,0224	37,17	0,0208	40,03	0,0186	44,76	0,0185	45,00

*) 1₊ и 1₋ - положительная и отрицательная ветви первого пика;
2₊ и 2₋ - то же для второго пика.

Уравнение суммарного БГ пика имеет вид:

$$i_1 = I_1 \cdot e^{-(\delta_1 \cdot E)^2} \quad \text{при} \quad \begin{array}{l} E < 0, \delta_{1+} \\ E > 0, \delta_{1-} \end{array}$$

$$i_2 = I_2 \cdot e^{-[\delta_2 \cdot (E - \Delta E)]^2} \quad \text{при} \quad \begin{array}{l} E < Em_2, \delta_{2+} \\ E > Em_2, \delta_{2-} \end{array}$$

$$i = i_1 + i_2$$

Контур пика, рассчитанный по уравнению БГ практически совпадает с экспериментальными данными.

Таким образом, предложенное нами уравнение БГ позволяет описывать форму аналитического сигнала стрептомицина на ртутно-пленочном электроде с целью его разделения на два самостоятельных пика. Этот прием мы использовали для дальнейшего изучения механизма электродного процесса стрептомицина.

Использование метода циклической вольтамперометрии показало, что при катодной развертке потенциала на циклических вольтамперограммах стрептомицина наблюдается четко выраженный аналитический сигнал. При анодном реверсе потенциала пик окисления стрептомицина выражен очень слабо, отношение величины анодного тока к катодному составляет 1/10, при этом разница между максимумами катодного и анодного пиков составляет менее 30 мВ.

Увеличение скорости вращения электрода приводило к возрастанию предельного тока стрептомицина, при этом наблюдалась тенденция к смещению аналитического сигнала относительно E_n . Зависимость величины предельного тока от $\omega^{1/2}$ носит прямолинейный характер. Экстраполируя кривую $I - \omega^{1/2}$ на ось ординат ($\omega = 0$), можно выделить часть тока, не зависящую от перемешивания и отвечающую нефарадеевскому процессу. Поскольку таким процессом при электровосстановлении органических веществ является адсорбция, возникающая вследствие структурного взаимодействия адсорбата и адсорбента, то отрезок, отсекаемый прямой линией на оси ординат, соответствует величине тока электровосстановления адсорбированных молекул. Адсорбционная составляющая тока электровосстановления стрептомицина составляет менее 20% суммарного тока.

На полулогарифмическом графике $E - \ln(I / I_{пред} - I)$, имеется два прямолинейных участка. Рассчитанные эффективные коэффициенты переноса (αn) имеют различные значения и изменяются по мере протекания электродного процесса от 0,8 до 0,62. Это указывает на сложный характер электровосстановления стрептомицина, протекающего, по-видимому, через стадию образования промежуточных продуктов реакции. Значение αn также оценено из зависимостей $I - \lg w$, $I - Q$ и по точкам перегиба восходящей и нисходящей ветвей пика стрептомицина.

Из полулогарифмических зависимостей и значения αn сделано предположение о числе электронов, принимающих участие в суммарном электродном процессе, которое равно $1,8 \pm 0,2$. Сделана оценка величины константы скорости k_s на основе изменения величин I_n и E_n при различных значениях w . Значение k_s составляет 10^{-7} см/с.

Таким образом, в целом электродный процесс не является чисто диффузионным и может быть осложнен как адсорбционными явлениями, так и предшествующими и последующими реакциями с участием органического вещества.

Применение метода катодной вольтамперометрии для определения стрептомицина и левомицетина в лекарственных препаратах и пищевых продуктах

При разработке методик изучено влияние на аналитические сигналы антибиотиков ряда соединений и ионов, которые являются электрохимически активными и могут содержаться в исследуемых объектах. Показано, что стократные избытки анионов Γ , Cl^- , Br^- , F^- , PO_4^{3-} ; катионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} , органических веществ: водорастворимых витаминов B_1 , B_2 , РР, фолиевой, аскорбиновой, никотиновой кислот, флавоноидов, полифенольных соединений и др. не изменяют характер вольтамперных кривых восстановления стрептомицина и левомицетина в установленных оптимальных условиях проведения электродного процесса.

Мешающее влияние оказывают белковые примеси. Основной белок молока – казеин – находится в пробе в виде растворимой в воде кальциевой соли. Составные компоненты растворимого белка прочно адсорбируются на поверхности электрода и участвуют в редокс-превращениях. Поэтому присутствие белков затрудняет электродные процессы, снижает чувствительность, воспроизводимость и точность анализа.

Для освобождения от белковых примесей использовали кислотный гидролиз 0,1 М HCl с последующим осаждением белка из гидролизата при $\text{pH } 4,7 \div 5,1$, что соответствовало изоэлектрической точке белковых примесей. Осадителями служили щавелевая кислота (при определении стрептомицина) и соль аммония сернокислового (при определении левомицетина). После отделения осадка центрифугированием проводили фильтрование раствора через бумажный фильтр с последующим вольтамперометрическим определением антибиотиков. Определение стрептомицина проводили в специальной двухкамерной ячейке, разделенной мембранным фильтром из химически и электрохимически инертного материала с диаметром пор 0,4 мкм.

На основании установленных оптимальных условий впервые разработаны экспрессные методики определения стрептомицина и левомицетина в лекарственных препаратах и в сложных по составу пищевых продуктах (молоко и молочные продукты) на уровне $6,8 \cdot 10^{-9}$ моль/л (10,0 мкг/кг) для стрептомицина и $9,3 \cdot 10^{-9}$ моль/л (3,0 мкг/кг) для левомицетина. Количественное определение проводили методом добавок стандартного раствора. Время анализа одной пробы не превышает 10 – 15 минут при анализе лекарственных препаратов и 2 часов при анализе молока.

Правильность разработанных методик подтверждена методом введено-найдено (табл. 2), при анализе лекарственных препаратов также проведением сравнительных проб спектрофотометрическим методом (табл. 3).

Таблица 2.

Результаты вольтамперометрического определения стрептомицина и левомицетина в молоке ($P = 0,95$)

Определяемое вещество	№ пробы	n	Введено	Найдено
			C, мг/кг	(C ± Δ), мг/кг
Стрептомицин	1	5	0,050	0,058 ± 0,015
	2	7	0,100	0,098 ± 0,028
	3	7	0,300	0,343 ± 0,076
	4	7	0,500	0,536 ± 0,120
	5	6	1,000	1,037 ± 0,290
Левомицетин	1	6	0,008	0,01 ± 0,003
	2	5	0,010	0,012 ± 0,003
	3	5	0,020	0,016 ± 0,006
	4	7	0,030	0,033 ± 0,010
	5	5	0,05	0,047 ± 0,012

Таблица 3.

Сравнение результатов анализа левомицетина в лекарственных препаратах методами вольтамперометрии и спектрофотометрии ($P = 0,95$)

Объект анализа	Вольтамперометрия		Спектрофотометрия	
	n	($C \pm \Delta$), % масс	n	($C \pm \Delta$), % масс
Глазные капли левомицетина 0,25%	7	0,249 \pm 0,012	6	0,247 \pm 0,020
- « -	6	0,248 \pm 0,010	5	0,246 \pm 0,015
- « -	5	0,251 \pm 0,010	5	0,253 \pm 0,015
- « -	7	0,250 \pm 0,015	6	0,247 \pm 0,017
- « -	6	0,254 \pm 0,012	5	0,251 \pm 0,015
		мг/1 таб		
Таблетки левомицетина 250 мг	7	250,64 \pm 9,00	6	248,43 \pm 10,00
- « -	5	249,68 \pm 8,50	5	247,39 \pm 9,05
Таблетки левомицетина 500 мг	6	498,59 \pm 10,30	5	505,23 \pm 10,80
- « -	6	496,38 \pm 9,50	5	495,45 \pm 11,00

Таким образом, впервые установлены условия количественного определения стрептомицина и левомицетина на уровне наноконцентраций, которые защищены патентом на изобретение РФ. Разработаны методики количественного определения антибиотиков в лекарственных препаратах и молочных продуктах. Методики метрологически аттестованы, внесены в Федеральный Реестр МВИ и внедрены в ряде ветеринарных, санитарно-эпидемиологических лабораторий и других учреждений России и Украины, что подтверждается свидетельствами о метрологической аттестации и актами о внедрении.

ВЫВОДЫ

1. Впервые установлены условия количественного определения стрептомицина и левомицетина методом вольтамперометрии с использованием ртутно-пленочного электрода: состав фона 0,01 М NaOH (pH 9,0 – 9,5) и 0,1 М

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; $E_{\text{эл}} - 1,2 \div - 1,3$ и $- 0,45 \div - 0,47$ В; $\tau_{\text{эл}} 30 \div 180$ и $30 \div 60$ с.; w $40 \div 50$ и $10 \div 25$ мВ/с для стрептомицина и левомицетина соответственно.

2. Определены некоторые физико-химические параметры электродной реакции с участием стрептомицина: $n = 1,8 \pm 0,2$, $\alpha n = 0,62 \div 0,80$, $k_s = 1 \cdot 10^{-7}$ см/с, имеющих аналитическое значение.
3. Методами циклической вольтамперометрии, из полулогарифмических зависимостей установлено, что электровосстановление представляет собой диффузионный процесс, осложненный побочными процессами: как адсорбционными явлениями, так и предшествующими и последующими реакциями с участием органического вещества.
4. Впервые предложено математическое описание формы аналитического сигнала стрептомицина на ртутно-пленочном электроде с использованием уравнения бигаусса для несимметричных пиков, позволяющее разделять два пика и повышать разрешающую способность метода.
5. Сделана оценка предела обнаружения и нижней границы определяемых содержаний. Значения C_{min} и C_n составляют соответственно $3,2 \cdot 10^{-11}$ и $7,5 \cdot 10^{-11}$ моль/дм³ для стрептомицина и $4,0 \cdot 10^{-9}$ и $6,0 \cdot 10^{-9}$ моль/дм³ для левомицетина.
6. Оценено мешающее влияние сопутствующих анионов, катионов, органических веществ (витаминов, флавоноидов, полифенольных и др. соединений) на величину тока восстановления антибиотиков. Установлены условия устранения мешающего влияния белков пищевых продуктов на аналитический сигнал антибиотиков. Способ подготовки пробы и определения левомицетина в пищевых продуктах и лекарственных препаратах защищен патентом на изобретение РФ. Предложена двухкамерная ячейка для вольтамперометрического определения стрептомицина в молоке.
7. На основании установленных оптимальных условий разработаны методики количественного химического анализа проб лекарственных препаратов

(таблетки, глазные капли и порошки для инъекций) и молочных продуктов на содержание стрептомицина и левомицетина методом вольтамперометрии с использованием ртутно-пленочного электрода на уровне 0,5 ПДК.

8. Методики количественного химического анализа левомицетина в лекарственных препаратах и молочных продуктах метрологически аттестованы, зарегистрированы в Федеральном Реестре МВИ, что подтверждается свидетельствами об аттестации и внедрены в ряде ветеринарных, санитарно-эпидемиологических лабораторий и других учреждений России и Украины что подтверждается шестью актами о внедрении.

**ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ ИЗЛОЖЕНО В
СЛЕДУЮЩИХ РАБОТАХ:**

1. Анисимова Л. С., Федорчук В. А., Пикула Н. П. Экспресс-определение левомицетина в лекарственных препаратах методом дифференциальной вольтамперометрии. // Вестник ТГУ, март 2000 г. с. 50 – 54.
2. Федорчук В. А., Анисимова Л. С., Скокшина И. В. Исследование и разработка методики определения левомицетина в лекарственных формах. // Материалы симпозиума «Теория электроаналитической химии и метод ИВА». Томск, 28 сент. – 1 окт. 2000 г. с. 258 – 260.
3. Анисимова Л. С., Слипченко В. Ф., Филичкина О. Г., Федорчук В. А. Применение вольтамперометрии в анализе органических соединений. // Материалы VI конференции «Аналитика Сибири и Дальнего Востока». Новосибирск, 21 – 24 ноября 2000 г. с. 63 – 64.
4. Анисимова Л. С., Слипченко В. Ф., Федорчук В. А. Способ количественного определения левомицетина в пищевых продуктах и фармпрепаратах. Патент РФ № 2180748 с приоритетом от 14.12.2000 г. Зарегистрирован в Гос. реестре изобретений РФ 20.04.2002 г.
5. Слипченко Г. Б., Стромберг А. Г., Федорчук В. А.. Математическое описание формы вольтамперометрических аналитических пиков органических соединений на примере стрептомицина с помощью универсальной

аппроксимационной формулы. // Материалы Всероссийской конференции «Актуальные проблемы аналитической химии». 11 – 15 марта 2002 г. Москва. т. 2, с. 65 – 66.

6. Федорчук В. А., Анисимова Л. С. Вольтамперометрическое определение стрептомицина в лекарственных препаратах. // Известия вузов. Химия и хим. технология. 2002. Т. 45. № 3. С. 64 – 65.
7. Федорчук В. А., Анисимова Л. С. Определение стрептомицина в лекарственных препаратах методом вольтамперометрии. // Материалы научно-практической конференции «Химия и технология лекарственных препаратов и полупродуктов». г. Новокузнецк, 27 июня 2002 г. с. 177 – 181.
8. Федорчук В. А., Анисимова Л. С. Определение стрептомицина и левомицетина в пищевых продуктах методом вольтамперометрии. // Материалы региональной научно-практической конференции «Технология органических веществ и высокомолекулярных соединений». Г. Томск, 8 – 10 октября 2003 г, с. 57 – 60.