

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»

Научная сессия БГМУ

25 января 2024 г.

Секция «МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ № 3»

Применение спектрофотометрического метода для определения азитромицина, действующего вещества противомикробного препарата, в атмосферном воздухе

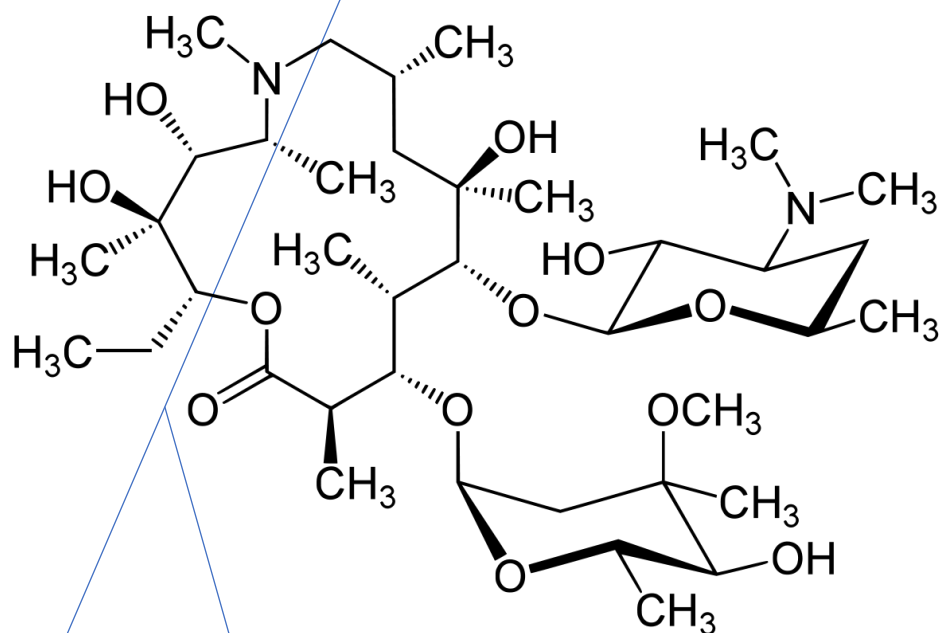
Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»

Лаборатория хроматографических исследований:

Мачальская Е.С., Саракач О.В., Крымская Т.П.,

Бондаренко Е.П., Казакевич Е.Л.

Азитромицин



Антибактериальный препарат широкого спектра действия из группы макролидов-азалидов, действует бактериостатически.

Связываясь с 50S субъединицей рибосом, угнетает пептидтранслоказу на стадии трансляции, подавляет синтез белка, замедляет рост и размножение бактерий, в высоких концентрациях оказывает бактерицидный эффект.

Значение предельно допустимой концентрации (ПДК) азитромицина в атмосферном воздухе составляет **8 мкг/м³**.

Класс опасности – первый.

Цель и задачи работы

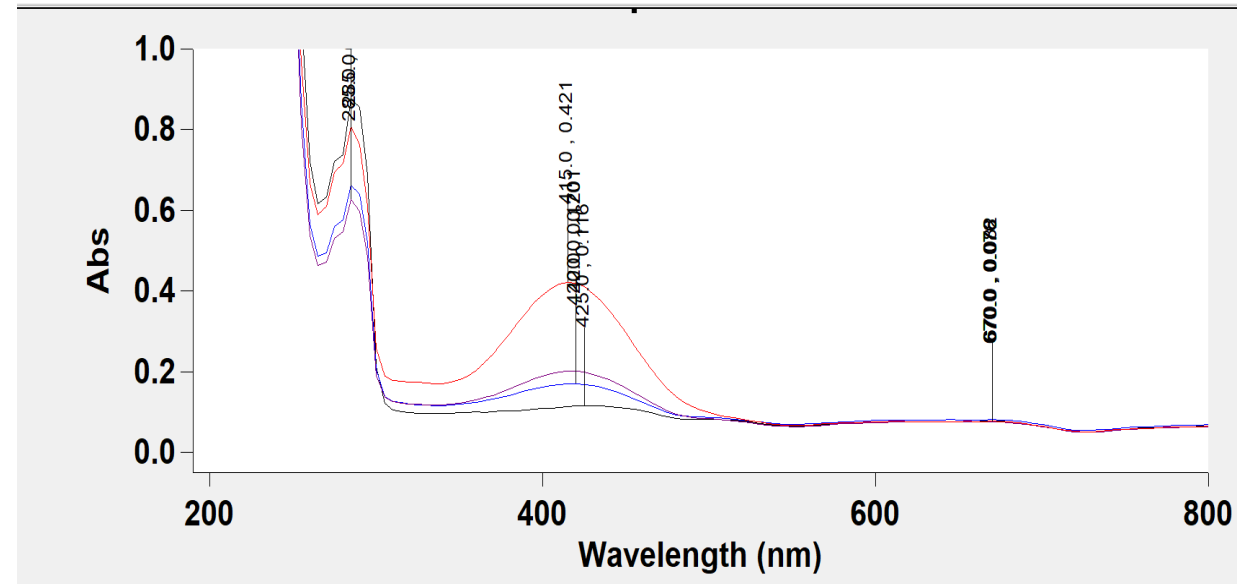
Цель работы – разработать методику определения массовой концентрации азитромицина в атмосферном воздухе спектрофотометрическим методом.

Задачи:

1. Рассмотреть физико-химические свойства азитромицина.
2. Ознакомиться со способами отбора проб атмосферного воздуха для улавливания и последующего определения содержания исследуемого вещества (подбор фильтров, времени и скорости отбора, сроки хранения проб, обработка проб).
3. Подобрать параметры определения азитромицина спектрофотометрическим методом.
4. Рассчитать метрологические характеристики методики с последующим согласованием в Могилевском ЦСМС.
5. Разработать методику выполнения измерений концентраций азитромицина в атмосферном воздухе спектрофотометрическим методом.

1 этап: подбор параметров спектрофотометрического определения

- ❖ Азитромицин поглощает УФ-излучение на коротких длинах волн, на которых наблюдаются помехи от растворителей и воздуха.
- ❖ Поэтому для его определения был выбран метод комплексообразования с бромфеноловым синим (БРВ) в среде ацетатного буфера с рН 3,0 с последующим определением на спектрофотометре «Cary 60», Agilent Technologies, при длине волны 415 нм.



Спектр поглощения комплекса азитромицина с бромфеноловым синим

Принцип метода

- Концентрирование азитромицина из воздуха на фильтры
- Экстракция его с фильтров органическим растворителем - этанолом

- Концентрирование экстракта приблизительно до $0,1 \text{ см}^3$
- Разбавление экстракта дистиллированной водой до 2 см^3

- Количественный перенос экстракта в делительную воронку
- Проведение реакции с бромфеноловым синим в присутствии ацетатного буфера с $\text{pH}=3$

- Экстракция полученного комплекса ионной пары хлороформом;
- Определение содержания окрашенного продукта реакции спектрофотометрическим методом при длине волны 415 нм .

2 этап: определение параметров отбора проб воздуха

- Поскольку азитромицин в атмосферном воздухе находится в виде мелкодисперсного аэрозоля (пыли), концентрирование из воздуха проводится на фильтры.
- Изучалось влияние содержащихся коэкстрактивных веществ в фильтрах обеззоленных «синяя лента», и фильтрующих волокнистых материалах АФА-ВП-20-1, АФА-ХП-20-1, АФА-ХА-20-1 (проведение реакции с ВРВ с экстрактами с фильтров).
- По результатам испытаний были выбраны фильтрующие волокнистые материалы **АФА-ХА-20-1**.

- Объем аспирируемого воздуха зависит от ПДК, которая составляет 8 мкг/м³, и определяется необходимостью накопления такого количества вещества на фильтре.
- Для достижения необходимой чувствительности методики определения азитромицина в воздухе рабочей зоны воздух с определенной скоростью протягивают с помощью аспирационного устройства ПУ-4Э через аналитический аэрозольный фильтр АФА-ХА-20-1. В одной точке должно быть отобрано **не менее двух** проб. Одновременно в качестве контрольной пробы используют чистый фильтр.
- Диапазон измеряемых концентраций азитромицина в атмосферном воздухе находится в пределах 6 – 340 мкг/м³.

Определение времени и скорости отбора проб воздуха

Время и скорость отбора проб зависят от предполагаемой концентрации азитромицина.

Таблица 1 – Рекомендации по отбору проб

Массовая концентрация азитромицина, мкг/м ³	Время отбора пробы, мин	Объемный расход при отборе пробы, дм ³ /мин	Отобранный объем воздуха, дм ³
От 6 до 45 вкл.	22	150,0	3300
Свыше 45 до 340 вкл.	4	110,0	440

После отбора фильтр с пробой складывают и помещают в бумажный конверт, помещают в кассетник, доставляют в лабораторию. Далее фильтры при помощи пинцета переносят в стеклянные флаконы или стеклянные бюксы.

Фильтры пригодны для анализа в течение двух суток при хранении в защищенном от света месте при температуре от 4 °С до 8 °С.

Одновременно в качестве контрольной пробы используют чистый фильтр. Обработка контрольной пробы происходит при тех же условиях, что и испытуемых образцов.

3 этап: пробоподготовка воздуха

- В стеклянные бюксы, содержащие фильтр с отобранной пробой воздуха, добавляют $5,0 \text{ см}^3$ этанола. Стеклянные бюксы с фильтрами помещают в ультразвуковую баню при температуре $30 \text{ }^\circ\text{C}$ на 10 мин.
- Экстракты переносят в грушевидную или круглодонную колбу вместимостью 50 см^3 , отжимая фильтр с помощью стеклянной палочки, экстракцию повторяют еще раз.
- Объединенный экстракт упаривают до объема приблизительно $0,1 \text{ см}^3$ на ротационном испарителе или водяной бане. К упаренному экстракту добавляют $1,9 \text{ см}^3$ дистиллированной воды.

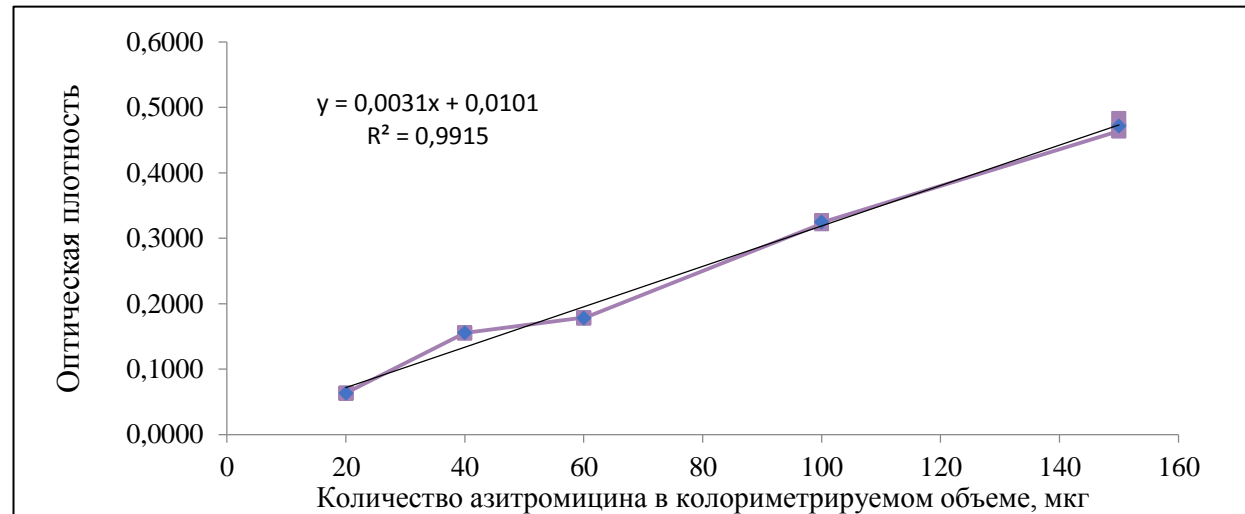
- Экстракты количественно переносят в делительные воронки вместимостью 50 см^3 . В каждую делительную воронку добавляют 2 см^3 ацетатного буферного раствора с $\text{pH}=3$ и 2 см^3 $0,1\%$ раствора бромфенолового синего. Содержимое воронки хорошо перемешивают и образовавшийся комплекс ионной пары дважды экстрагируют хлороформом по $5,0 \text{ см}^3$.
- Хлороформный слой аккуратно сливают в пробирку, избегая попадания воды. Измеряют оптическую плотность полученных растворов в кюветах длиной 1 см при длине волны 415 нм относительно контрольной пробы.

4 этап: построение градуировочного графика

На фильтры АФА-ХА-20-1 с помощью дозатора вносят рассчитанные количества основного стандартного раствора азитромицина с концентрацией 1,0 мг/см³ и фильтры обрабатывают согласно описанной методике.

Установление градуировочной характеристики проводят по пяти сериям из пяти градуировочных растворов по пяти значениям концентрации азитромицина путем измерения оптической плотности на спектрофотометре при длине волны 415 нм.

Градуировочный график имеет линейную зависимость ($y = a + bx$) оптической плотности от количества азитромицина в колориметрируемом объеме в диапазоне от 20 до 150 мкг.



Градуировочный график зависимости оптической плотности раствора от количества азитромицина в колориметрируемом объеме

Номер градуировочного раствора	Объем основного раствора азитромицина, внесенного на фильтр, см ³	Количество азитромицина в колориметрируемом объеме, мкг
1	0,020	20
2	0,040	40
3	0,060	60
4	0,100	100
5	0,150	150

Выводы

Была разработана методика определения азитромицина в воздухе рабочей зоны спектрофотометрическим методом и рассчитаны метрологические характеристики методики:

Математическая модель измерений

$$X = \frac{C \cdot 1000}{V} \cdot \frac{F}{Rec}$$

Где C – количество азитромицина, рассчитанное по градуировочному графику, мкг;
 F – фактор повторяемости.
 1000 – коэффициент перевода дм^3 в м^3 ;
 V – объем воздуха, отобранный для анализа и приведенный к стандартным условиям, дм^3 ;
 Rec – степень извлечения в относительных единицах.

Метрологические характеристики методики

Диапазон измерений, $\text{мкг}/\text{м}^3$	от 0,6 до 340
Предел повторяемости, r , %	10,11
Предел промежуточной прецизионности, $R_{I(ТО)}$, %	29,32
Относительная расширенная неопределенность, $U(X)$, %	25,0