

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА
Факультет хімії та фармації
Кафедра неорганічної хімії та хімічної освіти

Кваліфікаційна робота

на здобуття ступеня вищої освіти Магістр

**«Визначення вмісту токсичних елементів у лікарських засобах
рослинного походження методами атомної спектрометрії»**

«Determination of content of toxic elements in medicinal products of plant origin
by atomic spectrometry methods»

Виконав: здобувач вищої освіти
денної форми навчання
спеціальності 102 «Хімія»
освітньо-наукова програма «Фармацевтична хімія»
Левшов Станіслав Мурманович

Керівник: д.х.н., проф. Сейфулліна І.Й. _____
(підпис)

Рецензент: к.х.н., доц. Гузенко О.М. _____
(підпис)

Рекомендовано до захисту:
Протокол засідання кафедри
№ _____ від _____ червня 2024 р.

Захищено на засіданні ЕК № _____
протокол № _____ від _____ 2024 р.

Оцінка _____ / _____ / _____
(за національною шкалою, шкалою ECTS, бали)

Завідувач кафедри

Голова ЕК

_____ д.х.н., проф. Марцинко О.Е.
(підпис)

_____ д.х.н., проф. Шевченко О.В.
(підпис)

Одеса – 2024

РЕФЕРАТ

Дипломна робота виконана на кафедрі неорганічної хімії та хімічної освіти в межах науково-дослідної теми № 329 з використанням виробничої бази ТОВ «ІНСПЕКТОРАТ УКРАЇНА» згідно угоди про наукову співпрацю.

Мета роботи: визначити оптимальні умови кількісного визначення низки важких металів в лікарських засобах на прикладі вітамінно-мінеральних комплексів, що представлено на фармацевтичному ринку України.

В роботі розглянуто можливості «сухої» мінералізації та мінералізації з використанням приладу для мікрохвильового розкладання зразків Mars Xpress (Microwave Accelerated Reaction Digestion System) для підготовки зразків для спектрометричного випробування. Встановлено оптимальні умови для визначення вмісту важких елементів (As, Se, Cd, Pb, Cu та Zn) методами атомної спектрометрії.

Можлива галузь застосування: фармацевтичний аналіз та контроль якості лікарських засобів.

Ключові слова: важкі метали, лікарські засоби, атомно-абсорбційний аналіз з електротермічною атомізацією (AAS-ETA), атомно-емісійний аналіз з індуктивно зв'язаною плазмою (ICP-OES).

Кваліфікаційна робота викладена на 50 сторінках, містить 13 таблиць, 9 рисунків. Використано 89 літературних джерел.

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Вплив важких металів (Pb, Cd, As, Se, Cu, Zn та ін.) на здоров'я людини.	7
1.2. Методи визначення вмісту важких металів у лікарській сировині та лікарських засобах.	14
РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	19
2.1. Об'єкти дослідження	19
2.2. Апаратура, матеріали, реактиви	19
2.3. Методики проведення експерименту	21
2.3.1. Мінералізація зразків лікарських засобів	21
2.3.2. Приготування калібрувальних розчинів	22
2.3.3. Визначення вмісту Cd та Pb у лікарських засобах методом AAS-ETA	28
2.3.4. Визначення вмісту As та Se у лікарських засобах методом ICP-OES	30
2.3.5. Визначення вмісту Cu та Zn у лікарських засобах методом атомно-емісійної спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою (ICP-OES)	33
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ АНАЛІЗ	36
ВИСНОВКИ	39
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	40

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

AAS	– атомно-абсорбційна спектрометрія
AES	– атомно-емісійна спектрометрія
ETA	– електротермічна атомізація
ICP	– індуктивно зв'язана плазма
FAAS	- атомно-абсорбційна спектрометрія з полум'яною атомізацією
ICP-MS	- мас-спектрометрія з індуктивно зв'язаною плазмою

ВСТУП

Методи атомної спектрометрії, зокрема атомно-абсорбційна спектрометрія з полум'яною атомізацією (FAAS), електротермічною атомізацією (AAS-ETA), а також атомно-емісійна спектроскопія з індуктивно зв'язаною плазмою (ICP OES) знаходять широке застосування визначення елементного складу мінеральної сировини, контролю якості води, продуктів харчування, медикаментів, моніторингу стану навколишнього середовища, тощо.

Атомно-абсорбційна спектрометрія – це інструментальний метод кількісного елементного аналізу за атомними спектрами поглинання для визначення вмісту металів у розчинах. Даний метод засновано на поглинанні характеристичного випромінювання вільними атомами у атомній парі. Вміст елементу визначається за функціональною залежністю концентрація елементу – оптична густина. Найпоширенішими методами атомізації є полум'яний з використанням газової суміші ацетилен – повітря з температурою 2200-2300°C та газової суміші ацетилен – закис азоту з температурою, що може сягати 2900°C. Методом полум'яної атомно-абсорбційної спектрометрії можна визначати майже 70 елементів Періодичної системи. Метод електротермічної атомізації використовує в якості атомізатора графітові трубки, які нагріваються електричним струмом високої сили, що дозволяє досягати температур 2600-2700°C. Метод AAS-ETA використовується для визначення слідових кількостей таких елементів, як Cu, Cr, Cd, Pb, Ni, Mn, тощо у різних об'єктах, зокрема продуктах металургії, ґрунтах, добривах, клінічних дослідженнях.

Атомно-емісійна спектрометрія з індуктивно зв'язаною плазмою (ICP-OES) – це інструментальний метод кількісного елементного аналізу, що використовує в якості атомізатора – джерела збудження атомів, використовується індуктивно зв'язана плазма. Індуктивно зв'язана плазма – це сильно іонізований інертний газ (аргон) з рівною кількістю електронів та іонів, що підтримується радіочастотним полем. Під впливом високої температури

плазми послідовно протікає десольватація, перетворення зразка в пар, збудження та іонізація атомів досліджуваного зразка. Вміст елементу визначається за функціональною залежністю концентрація елементу – інтенсивність випромінювання. Даний метод аналізу широко використовується для визначення елементного складу матеріалів та продуктів металургії, мінеральних добрив, контролю якості продуктів харчування та у фармацевтичній промисловості.

Мета даної роботи: встановити оптимальні умови для визначення важких елементів (As, Se, Cd, Pb, Cu та Zn) методами атомної спектрометрії в зразках комплексів вітамінів та мінералів, які представлені на фармацевтичному ринку України.

Для досягнення мети необхідно було вирішити *наступні задачі:*

1. Розглянути можливості «сухої» мінералізації та мінералізації з використанням приладу для мікрохвильового розкладання зразків Mars Xpress (Microwave Accelerated Reaction Digestion System) для підготовки зразків для спектрометричного випробування.

2. Встановити оптимальні умови для визначення вмісту важких елементів (As, Se, Cd, Pb, Cu та Zn) методами атомної спектрометрії в зразках комплексів вітамінів та мінералів «Супервіт», «Вітахелс», «Супрадин», «Дуовіт» (блакитні таблетки).

3. Визначити межі кількісного визначення аналітів (LOQ) на приладах ICP-OES (Hydride generation), ICP-OES, AAS-ETA та можливість їх застосування для аналізу вітамінно-мінеральних комплексів.

РОЗДІЛ 1.

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Вплив важких металів (Pb, Cd, As, Se, Cu, Zn та ін.) на здоров'я людини

Важкі метали та металоїди мають атомний номер більший за 20 та густину, що перевищує 5 г/см^3 [1]. Деякі з них, включаючи Хром (Cr), Кобальт (Co), Мідь (Cu), Залізо (Fe), Марганець (Mn), Молибден (Mo), Селен (Se) та Цинк (Zn), відіграють життєво важливу біохімічну та фізіологічну роль в організмі людини у низьких концентраціях [2], [3]. Ці мікроелементи є компонентами важливих ферментів, що беруть участь в окисно-відновних реакціях, біосинтезі, транспорті та інших метаболічних процесах [4]. Проте інші важкі метали та металоїди, такі як Миш'як (As), Кадмій (Cd), Ртуть (Hg), Нікель (Ni) та Ванадій (V), не мають відомого важливого біологічного призначення; навпаки, вони чинять негативний вплив на здоров'я [4], [5]. Автори роботи [2] вказують на те, що важкі метали можуть стати токсичними, якщо їхні концентрації перевищують певні порогові значення.

Так, за даними Міжнародного агентства з вивчення раку (МАВР), Миш'як, Хром (VI), Кадмій і Нікель відносяться до канцерогенів групи I [6]. Миш'як і кадмій негативно впливають на метаболізм глюкози та інші метаболічні шляхи. Повідомлялося, що на гомеостаз глюкози також впливають Марганець, Ртуть, Нікель та Цинк [7]. Вплив Миш'яку, Кадмію, Міді, Нікелю, Свинцю та Цинку збільшує ризик розвитку цукрового діабету [8]. Існує припущення про потенційний зв'язок між впливом важких металів та серцево-судинними ускладненнями. До таких кардіотоксичних важких металів належать Миш'як, Кадмій, Свинець і Ртуть. Дисбаланс основних металів, включаючи Мідь, Марганець, Нікель і Цинк, також пов'язаний з підвищеним ризиком серцево-судинних захворювань (ССЗ) [9], [10]. Миш'як, Кадмій, Свинець і Ртуть є одними з відомих ендокринних порушників, які можуть впливати на розвиток мозку у плода, а також на ріст немовляти [11].

Підвищений ризик виникнення та прогресування нейродегенеративних захворювань, таких як хвороба Альцгеймера, хвороба Хантінгтона, хвороба Паркінсона, м'язова дистрофія та розсіяний склероз, був продемонстрований після впливу важких металів, включаючи Миш'як, Кадмій, Мідь, Залізо, Свинець, Марганець та Ртуть [11], [12].

Важкі метали та металоїди запускають клітинні сигнальні каскади [13]. Ці сигнальні шляхи та їх регуляторні компоненти регулюють ріст, проліферацію, диференціацію, регуляцію клітинного циклу, репарацію ДНК, імунологічну відповідь, злоякісну трансформацію та апоптоз клітин. Деякі з них, включаючи Миш'як, Кадмій, Ртуть, Нікель та інші, стали значною проблемою для громадського здоров'я через їхню високотоксичну природу [4], [14], [15], [16].

Таблиця 1.1

Основні метаболічні ефекти деяких важких металів та металоїдів: As, Cd, Cr, Fe, Hg, Ni та V [17]

Миш'як	Підвищений ризик розвитку діабету 2 типу та значне збільшення захворюваності та смертності порівняно з незараженими територіями [18], [19].
	Серцево-судинні захворювання (ССЗ), наприклад, атеросклероз, ішемічна хвороба серця та гіпертонія [20].
	Респіраторні захворювання, наприклад, туберкульоз легенів, бронхіт та рак легенів [21].
	Нейротоксичність, наприклад, нейропсихологічні, нейронні та нервові дисфункції, включаючи вивчення мови, виконавчу діяльність, пам'ять, швидкість обробки, розумову відсталість та порушення розвитку [22], [23].
	Ниркові дисфункції, включаючи альбумінурію, протеїнурію та хронічну хворобу нирок (ХХН) [24].

	<p>Рак внутрішніх органів, включаючи сечовий міхур, нирки, печінку, легені, матку та передміхурову залозу [25].</p>
	<p>Шлунково-кишкові розлади, включаючи нудоту, блювоту, біль у животі та діарею [26].</p>
	<p>Аномальна чорно-коричнева пігментація шкіри (меланоз) та ураження шкіри, наприклад, затвердіння долонь і підшов або кератоз, що призводить до гіперкератозу та раку шкіри [27].</p>
Кадмій	<p>Діабет та пов'язані з діабетом захворювання нирок [28].</p>
	<p>ССЗ, включаючи гіпертонію, інсульт, серцеву недостатність, атеросклероз та захворювання периферичних артерій [29].</p>
	<p>Респіраторні ускладнення, включаючи грипоподібні симптоми (озноб, лихоманка тощо), що супроводжуються болем у грудях, кашлем і задишкою, бронхоспазм і набряк легенів, внутрішньоальвеолярні крововиливи, тромбоз, пошкодження і запалення легенів, хронічний риніт, бронхіт і навіть рак легенів [30], [31], [32].</p>
	<p>Неврологічні зміни, такі як головний біль, зниження концентрації уваги, порушення здатності до навчання, гіперактивність, нюхова дисфункція та дефіцит пам'яті, навіть загибель нейронів та порушення клітинних сигнальних шляхів [33].</p>
	<p>Рак нирки та інші ниркові дисфункції, такі як нефротоксичність та нефропатія, дисфункція ниркових каналців та клубочків, сечокам'яна хвороба та ниркова недостатність, що проявляється аміноацидурією, глюкозурією, гіперкальціурією, гіперфосфатурією, поліурією тощо. [28], [34], [35], ураження нирок, що призводить до ураження кісток, зниження мінеральної щільності кісток та інших наслідків остеомалаяції та остеопорозу [35].</p>

	Рак життєво важливих органів, таких як простата, сечовий міхур, молочна залоза та печінка [30].
Хром	Підвищений ризик ССЗ [36].
	Чхання, водянисті виділення з носа, утруднене дихання, відчуття задухи в горлі, астма та інші респіраторні розлади, такі як хронічний бронхіт, хронічне подразнення, хронічний фарингіт та хронічний риніт [37], [38].
	Симптоми запаморочення, головного болю та слабкості [37].
	Ниркова токсичність, включаючи гострий тубулярний некроз, гостру ниркову недостатність, низькомолекулярну протеїнурію та ХХН [39], [40].
	Рак легенів та рак носа і носових пазух [41], [42].
	Реакція гіперчутливості IV типу, що характеризується екземою, шлунково-кишковою кровотечею, запамороченням, спрагою, болем у животі та кривавою діареєю, а у важких випадках - комою та смертю [43].
Залізо	Інсулінорезистентність, діабет 2 типу та інші стани, включаючи гестаційний діабет і переддіабет, а також ожиріння, метаболічний синдром [44].
	ССЗ та артеріальні тромбози [44], [45].
	Захворювання дихальних шляхів і легенів, включаючи хронічну обструктивну хворобу легенів, рак легенів, муковісцидоз, ідіопатичний легеневий фіброз і астму [46].
	Неврологічні розлади, наприклад, епілепсія, хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, хвороба Хантінгтона та бічний аміотрофічний склероз [47].
	Підвищена екскреція заліза з сечею, відкладення заліза в нирках, травми нирок та ниркова недостатність [48].

	Різні види раку, такі як рак передміхурової залози, підшлункової залози, товстої кишки, легенів, молочної залози, гематологічні раки (лейкемії, лімфоми та міеломи, такі як множинна мієлома та неходжкінська лімфома), рак голови, шиї, нирково-клітинний рак та гепатоцелюлярна карцинома [49], [50], [51].
Ртуть	Інсулінорезистентність, ожиріння та метаболічний синдром [52].
	ССЗ, включаючи дисліпідемію, гіпертонію та атеросклероз [52], [53].
	Легеневі захворювання, включаючи бронхіт, пневмоніт та легеневий фіброз [54], [55].
	Нейротоксичність, що включає когнітивні порушення, втрату слуху, порушення рівноваги, звуження поля зору, проблеми з пам'яттю, мозочкову атаксію, дизартрію, постуральний та руховий тремор [4], [56].
	Ниркова токсичність, особливо для ниркових канальців [57].
	Порушення з боку ШКТ, включаючи біль у животі, розлад травлення, запальні захворювання кишечника, виразки та криваву діарею [54].
	Ендокринні порушення [58], [59].
Репродуктивна токсичність [54].	
Нікель	Поширеність діабету 2 типу [60].
	Підвищений ризик ССЗ [61].
	Респіраторні захворювання, включаючи астму та бронхіт, запалення в дихальних шляхах та легенях, а також фіброз легенів [62], [63].
	Нейротоксичність, деякі нейродегенеративні та нервово-психічні захворювання, когнітивні порушення та мітохондріальні дисфункції [63], [64], [65].

	Гострі ниркові порушення, включаючи ХХН та кісткові розлади [66], [67].
	Рак дихальних шляхів, рак легенів, рак носа та носових пазух [63].
	Запалення травного тракту та симптоми синдрому подразненого кишечника [68].
	Контактний дерматит та шкірна алергія [66].
	Миттєві симптоми, такі як нудота, блювання, запаморочення та роздратування, за якими слідують симптоми уповільненого типу, такі як скутість у грудях, постійний кашель, прискорене серцебиття, пітливість, тахікардія, розлади зору та слабкість [62].
Ванадій	Підвищений ризик різноманітних патологій, таких як гіпертонія, ураження ЦНС та неврологічні розлади, гіперреактивність бронхів, системне запалення, гіперкоагуляція та рак [69], [70].
Свинець	Анемія, розлади нервової системи (зниження розумових і трудових здібностей, розлад поведінки, відставання в розвитку, розумова відсталість у дітей).
Мідь	Участь у процесах кровотворення, відіграє важливу роль в утворенні колагену. За високої концентрації може призвести до отруєння, пошкодження печінки, нирок і серцево-судинної системи, розвитку алергійних реакцій і порушення обміну речовин.
Цинк	Відіграє ключову роль в обміні речовин, бере участь у розвитку та активації імунних клітин (лімфоцити і нейтрофіли). Приймає участь у більш ніж 300 ферментативних реакціях і допомагає підтримувати нормальний рівень гормонів в організмі, сприяє секреції гормону росту.

	<p>Нестача може призвести розвитку хвороб очей, сповільнення росту у дітей та підвищення чутливості до інфекцій.</p>
Селен	<p>Є потужним антиоксидантом: допомагає захистити клітини організму від дії вільних радикалів, працює спільно з іншими антиоксидантами, такими як вітамін Е, і підсилює їхній ефект. Необхідний для виробництва гормонів щитоподібної залози, таких як тироксин.</p> <p>Дефіцит може призвести до розладів роботи щитоподібної залози, що може проявитися у вигляді погіршення метаболізму, стомлюваності, проблем із пам'яттю та настроєм.</p>

1.2. Методи визначення вмісту токсичних елементів у лікарській сировині та лікарських засобах.

Аналіз фармацевтичних препаратів на вміст слідових кількостей важких металів, зокрема токсичних елементів класу I (Pb, Cd, Hg і As) і класу II (Co, V і Ni), які є токсичними для людини, має першорядне значення. Ці елементарні домішки у фармацевтичному продукті можуть походити із забрудненої сировини (розчинники), різних допоміжних речовин (наповнювачі, барвники, стабілізатори, ароматизатори, зв'язувальні речовини, покриття), каталізаторів та хімічних реагентів, які використовуються під час синтезу АФІ [71]. Іншим ненавмисним джерелом домішок може бути забруднення продукту через реакційні ємності або види обладнання (лінії розливу, фільтри, ємності для змішування, пакувальні та контейнери для зберігання) під час виробничого процесу [72].

Авторами роботи [73] розроблена неруйнівна методика визначення токсичних елементів класу I та II у фармацевтичній продукції методом дисперсійної рентгенівської флуоресценції (XRF). Описана методика вимагає мінімальної пробопідготовки та дозволяє кількісно визначати токсичні домішки, які присутні в зразку в концентрації менше 20 ppm з найнижчим рівнем виявлення до 0,1 ppm. Нажаль наведені у роботі значення LOQ для Cd (1,09 ppm), Pb (0,36 ppm), As (0,36ppm), Hg (0,33ppm) є занадто високими, тобто розроблена методика є недостатньо чутливою.

Роботу [74] присвячено визначенню слідових кількостей Паладію, Платини та Родію у фармацевтичних препаратах методом ICP-MS. Межі виявлення становили 15, 2,8, 2,5 нг/г для паладію в еналаприлу малеаті, платини в кальцію фолінаті та родію в леводопі, відповідно. Домішка родію також була визначена методом GFAAS, а методи ICP-MS та TXRF також були застосовані для скринінгу інших домішок металів у лікарських засобах. В якості внутрішнього стандарту використовували Se 20мкг/г. Недоліком описаної пробопідготовки є те, що автори розкладали органічну матрицю

кальцію фоліату за температури 550 С протягом 1-2 годин у кварцевих тиглях до повного видалення Карбону.

Авторами [75] розроблену оригінальну методику визначення Cd, Co, Ni, Pb у лікарських засобах з використанням мікроколоночної системи попереднього концентрування з використанням сорбенту на основі IDAEC (iminodiacetic acid ethyl cellulose) у поєднанні з GFAAS. Кількісне визначення вказаних аналітів можливе на рівнях нг/г. Також показано можливість розділення Cr(III) та Cr(VI) з використанням сорбенту IDAEC та іонообмінних колонок на основі сорбенту diethylaminoethyl DE-cellulose, відповідно. Об'єктами аналізу слугували сорбіт, маніт, парацетамол, амідопірін, хлоралгідрат. Статтю [76] присвячено використанню методу ICP-MS для контролю якості фармацевтичної продукції.

В огляді [77] розглядаються такі аналітичні методи визначення неорганічних елементів в фармацевтичній продукції, як спектрофотометрія, атомно-абсорбційна спектрометрія (AAS), рентгенофлуоресцентна спектрометрія (XRFS), інструментальний нейтронно-активаційний аналіз(INAA), атомно-емісійна спектрометрія з індуктивно зв'язаною плазмою (ICP-AES), мас-спектрометрія з індуктивно зв'язаною плазмою (ICP-MS), атомно-емісійна спектрометрія мікрохвильової плазми (MP-AES), лазерна абляція - ICP-MS (LA-ICP-MS)

В роботі [78] розглядаються способи розкладання органічної матриці лікарських засобів як необхідна стадія пробоподготовки на прикладі карбамазепіну, амітриптиліну гідрохлориду та іміпраміну гідрохлориду. Обговорюється вплив та особливості пробопідготовки на отримання надійних результатів щодо вмісту As, Pb та Hg методом ICP-MS у вказаних фармацевтичних препаратах.

Визначенню деяких елементів (Pb, Cd, As, Hg, Cu, Co, Mn) в 15 зразках рослинного, тваринного та мінерального походження, що використовуються в китайській традиційній медицині, присвячено роботу [79]. Автори роботи [80] обговорюють проблему контамінації токсичними елементами (Pb, Hg, Cd, As,

Al, Ba, Sb, Tl, Sn) БАДів та лікарських засобів китайської традиційної медицини, що представлено на споживчому ринку.

Визначення мікроелементів (Cd, Co, Pb, Al, Cr, Fe, V) у фітопрепаратах, що представлено на споживчому ринку Аргентини, автори роботи [81] проводили методами атомно-абсорбційної спектрометрії з електротермічною атомізацією (AAS-ETA) та оптико-емісійної спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою (USN-ICP-OES) та ультразвуковою системою розпилення.

Автори огляду [82] детально розглядають можливості методу ICP-MS для кількісного визначення різних валентних форм елементів, зокрема As та Hg, що мають різну токсичність для організму людини. Багато уваги присвячено кількісному аналізу лікарських засобів та їх метаболітів даним методом.

Роботу [83] присвячено визначенню слідових кількостей Паладію у фармацевтичній субстанції методом AAS-ETA. Розглядаються впливи температури озолення та атомізації на величину абсорбції для органічних (ацетонітрил, диметилсульфоксид) та водно-органічних (вода – ацетонітрил, вода - диметилсульфоксид) досліджуваних розчинів. Найбільші значення абсорбції було досягнуто за температури озолення, що не перевищувала 1000°C, та температури атомізації 2800°C. Авторами роботи [84] проведено дослідження, присвячене визначенню Рутенію у твердих та рідких лікарських формах методом AAS-ETA. Було протестовано вплив різних органічних та водно-органічних розчинників на величину абсорбції, визначено вплив температури озолення та атомізації на величину абсорбції, розроблено оптимальну температурну програму для кількісного визначення Паладію. Авторами роботи [84] встановлено величину LOQ, що дорівнює 0,5 мкг/г для твердих зразків та 0,005 мкг/мл для рідких.

В статті [85] розглянуто метод атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою та функцією електротермічного випаровування твердих зразків (ETV-ICP-OES) для визначення As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru та V у лікарських засобах. Встановлено, що

оптимальний температурний діапазон для видалення органічної матриці складає 300-350°C. Авторами наведено значення LOD для визначуваних елементів, розраховані методом 3σ : As – 107 мкг/г, Cd – 0,2 мкг/г, Cu – 0,04 мкг/г, Pb – 2,5 мкг/г. Також для порівняння наведено значення LOD для методу атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою при використанні процедури мікрохвильового розкладання зразків (MIC-ICP-MS): As – 0,4 мкг/г, Cd – 0,005 мкг/г, Cu – 0,9 мкг/г, Pb – 0,2 мкг/г.

Автори роботи [86] визначали вміст Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb та Zn в рослинній сировині та їхніх настоях методом атомно-абсорбційної спектрометрії з графітовою пічкою (GFAAS) після мікрохвильової обробки рослинних зразків. Показано, що вміст токсичних елементів в рослинній сировині складає: у кульбабі лікарській (*Taraxacum officinale*) – Cd – 0.33 ± 0.11 мг/кг, Pb – 0.73 ± 0.21 мг/кг; у березовому листі (*Folium Betulae*): Cd – 0.68 ± 0.09 мг/кг, Pb – 0.90 ± 0.22 мг/кг; у суцвітті глоду (*Inflorescentia Crataegi*) – Cd – 0.16 ± 0.03 мг/кг, Pb – 1.51 ± 0.16 мг/кг.

В роботі [87] досліджувалась можливість кількісного визначення Pd у препараті фозиноприл натрію (моноприл) методом ICP-MS. Паладій використовується на одному з етапів синтетичного шляху виробництва фозиноприлу натрію в якості каталізатору. В якості розчинника найефективнішим виявився розчин 25% 2-бутоксietанол – 75% вода: досягається повне розчинення фозиноприлу натрію та не відбувається гідролізу Паладію з утворенням Pd(OH)₂. У досліджуваних зразках фозиноприлу натрію вміст Паладію виявився меншим за LOQ (0.1 мкг/г). Діапазон визначуваних концентрацій: 1 -50 нг/мл.

В огляді [88] розглядаються особливості використання методів атомно-абсорбційної спектрофотометрії з полум'яною іонізацією (FAAS) та електротермічною атомізацією (GFAAS), атомно-емісійна спектрометрія з індуктивно зв'язаною плазмою (ICP-AES), мас-спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою (ICP-MS), а також методи аналізу твердих тіл: спектроскопія лазерно-індукованого пробую (LIBS) та мас-спектрометрія з

лазерною абляцією ICP-MS (LA-ICP-MS), - для аналізування лікарських препаратів.

В роботах [89] розроблено метод одночасного багатоелементного визначення вмісту хімічних елементів методом мас-спектрометрії з індуктивно-зв'язаною плазмою (ICP-MS) як альтернатива застарілому «граничному тесту на вміст важких металів», передбаченому Фармакопеєю США (USP), Європейською фармакопеєю (EP) та Британською фармакопеєю (BP).

РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

2.1. Об'єкти дослідження

Об'єктами дослідження слугували лікарські засоби, що містять комплекс вітамінів та мінералів «Супервіт», «Вітахелс», «Супрадин», «Дуовіт» (блакитні таблетки), які представлені на фармацевтичному ринку України.

2.2. Апаратура, матеріали, реактиви

- Ваги аналітичні Sartorius Internal Analytical Balances, точність: 0,1 мг, максимальна вага 220 г.;
- Система отримання деіонізованої води Millipore Direct-Q 3 Water Purification System;
- Прилад для мікрохвильового розкладання зразків Mars Xpress (Microwave Accelerated Reaction Digestion System) з комплектом герметичних PFA-лайнерів об'ємом 55 мл;
- Муфельна піч SNOL ,2/ 1100L (максимальна температура 1100°C);
- Спектрометр оптичний емісійний з індуктивно зв'язаною плазмою Optima 8000 ICP-OES, Perkin Elmer Ink, Singapore;
- Спектрофотометр атомно-абсорбційний Shimadzu AA-7000, Японія;
- Графітові трубки високої густини (Graphite Tube High Density), Batch-No 105337835, Shimadzu;
- Піпет-дозатори VITLAB micropipette регульованим об'ємом дози 20-200 мкл та 100 – 1000 мкл;
- Колби мірні пластикові Vitlab, клас В, об'ємом 10 ± 0,08 мл, 25 ± 0,08 мл та 100 ± 0,20 мл;
- Градуйовані піпетки пластикові об'ємом 5 ± 0,05 мл та 10 ± 0,1 мл;
- Тиглі кварцеві високі об'ємом 40 мл;
- Нітратна кислота (Nitric acid), Puriss. p.a. Reag. ISO, Reag, Ph. Eur., for determinations with dithizone, ≥ 65%, Honeywell Fluka;

- ICP multi-element standard solution IV (23 elements in diluted nitric acid): Ag, Al, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr, Tl, Zn, 1000 mg/l, Ceptipur, Supelco;
- Arsenic standard solution, 1000 mg/l As, Ceptipur, Supelco;
- Стандартний зразок Селену(IV), 1,00 мг/см³, СЗ РМ 154-2023 (фон 1моль/дм³ HNO₃);
- Стандартний зразок Кадмію, 1,00 мг/см³, СЗ РМ 135-2023 (фон 1моль/дм³ HNO₃);
- Стандартний зразок Міді, 1,00 мг/см³, СЗ РМ 142-2023 (фон 1моль/дм³ HNO₃);
- Стандартний зразок Свинцю, 1,00 мг/см³, СЗ РМ 151-2023 (фон 1моль/дм³ HNO₃);
- Стандартний зразок Цинку, 1,00 мг/см³, СЗ РМ 105-2023 (фон 1моль/дм³ HNO₃);
- Аскорбінова кислота (L-Ascorbic acid), ACS reagent, ≥99%, Sigma Aldrich;
- Калію йодид (Potassium iodide), Puriss. p.a., reagent, ISO, reagent, Ph. Eur., ≥99.0%, Sigma Aldrich;
- Натрію борогідрид (Sodium borohydride), powder, ≥ 98.0%, Sigma Aldrich;
- Натрію гідроксид (Sodium hydroxide), puriss. meets analytical specification of Ph. Eur., BP, NF, E524, 96-100.5%, pellets, Sigma Aldrich;
- Хлоридна кислота, х.ч., 36.5% (густина 1,19 г/см³);

2.3. Методики проведення експерименту

2.3.1. Мінералізація зразків лікарських засобів

Мінералізацію досліджуваних зразків лікарських засобів проводили:

- 1) методом «сухої» мінералізації;
- 2) методом мінералізації у герметичних PFA-лайнерах під дією мікрохвильового випромінювання за допомогою приладу MARS Xpress.

Для «сухої» мінералізації 1 таблетку досліджуваного препарату поміщали у кварцеві тиглі. Кварцеві тиглі з досліджуваними зразками поміщали до муфельної печі при кімнатній температурі. Температуру у муфельній печі поступово підвищували до 550°C та витримували при заданій температурі протягом 4 годин до отримання сухого залишку, що не містив обвуглених часток. Кварцеві тиглі з мінералізованими зразками охолоджували в ексікаторі до кімнатної температури. Сухий залишок розчиняли у 10 мл суміші концентрованих нітратної та хлоридної кислоти у співвідношенні 1:3. Розчинення проводили при помірному нагріванні та постійному перемішуванні. Отримані розчини кількісно переносили до мірних пластикових колб об'ємом 100 мл, охолоджували до кімнатної температури, доводили до міткої деіонізованою водою та ретельно перемішували. Перед проведенням вимірів отримані розчини фільтрували через PTFE-фільтри 0,45 мкм, відкидаючи першу порцію фільтрату.

Для мікрохвильової мінералізації 1 таблетку досліджуваного зразку переносили до PFA-лайнєрів. До кожного лайнеру додавали 10 мл концентрованої нітратної кислоти та витримували протягом 20 хв. у витяжній шафі. PFA-лайнєри щільно закривали пробками та кришками й переносили у прилад для мікрохвильового розкладання зразків Mars Xpress. Температурна програма для розкладу зразків досліджуваних зразків біла наступною:

Sample type:	Organic (органічна матриця)
Control type:	Ramp to temperature
Temperature (°C):	190
Ramp (mm:ss):	15:00
Hold (mm:ss):	20:00
Power (W):	900

Після закінчення процедури мінералізації PFA-лайнери охолоджували до кімнатної температури. Отримані розчини кількісно переносили у мірні колби об'ємом 100 мл та доводили до мітки деіонізованою водою. Перед проведенням вимірів отримані розчини фільтрували через PTFE-фільтри 0,45 мкм, відкидаючи першу порцію фільтрату.

2.3.2. Приготування калібрувальних розчинів

Серію калібрувальних розчинів для проведення вимірів на приладі ICP-OES готували шляхом розведення мультиелементного стандарту ICP multi-element standard solution IV (23 elements in diluted nitric acid).

Робочий розчин мультиелементного стандарту, 100 мкг/мл: 1,000 мл мультиелементного стандарту ICP multi-element standard solution IV (1000 мкг/л) за допомогою піпет-дозатора переносили у пластикову мірну колбу об'ємом 10 мл, вносили 0,100 мл концентрованої нітратної кислоти та доводили об'єм розчину до мітки деіонізованою водою, ретельно перемішували.

В ряд пластикових мірних колб об'ємом 25 мл вносили аліквоти робочого (100 мкг/мл) та стандартного (1000 мкг/мл) розчинів мультиелементного стандарту ICP multi-element standard solution IV за допомогою піпет-дозаторів з регульованим об'ємом дози 20 – 200 мкл та 100 - 1000 мкл (див. табл. 2.1)

Серію калібрувальних розчинів для визначення Pb та Cd на приладі AAS-ETA готували розведенням стандартних розчинів Свинцю та Кадмію (1,00 мг/см³).

Робочий розчин Pb та Cd (10 мкг/мл): 1,000 мл стандартного розчину Свинцю (1,00 мг/см³) та 1,000 мл стандартного розчину Кадмію (1,00 мг/см³) за допомогою піпет-дозатора переносили у пластикову мірну колбу об'ємом 100 мл, вносили 1,00 мл концентрованої нітратної кислоти та доводили об'єм розчину до мітки деіонізованою водою, ретельно перемішували.

Таблиця 2.1

Приготування серії калібрувальних розчинів Cu та Zn для вимірів на приладі
ICP-OES

№	Концентрація елементу, мкг/мл	Об'єм колби, мл	Маса елементу, мкг	Об'єм робочого розчину (100 мкг/мл), мкл	Об'єм стандартного розчину (1000 мкг/мл), мкл	Об'єм розчину HNO ₃ :HCl (1:3), мл
1	0	25	0	0	0	0,25
2	0,5	25	12,5	125	-	0,25
3	1,0	25	25	250	-	0,25
4	2,0	25	50	-	50	0,25
5	5,0	25	125	-	125	0,25
6	8,0	25	200	-	200	0,25
7	10,0	25	250	-	250	0,25

Робочий розчин Pb та Cd (100 нг/мл): 1,000 мл робочого розчину Pb та Cd (10 мкг/мл) за допомогою піпет-дозатора переносили у пластикову мірну колбу об'ємом 100 мл, вносили 1,00 мл концентрованої нітратної кислоти та доводили об'єм розчину до мітки деіонізованою водою, ретельно перемішували.

Робочий розчин Pb та Cd (10 нг/мл): 1,000 мл робочого розчину Pb та Cd (100 нг/мл) за допомогою піпет-дозатора переносили у пластикову мірну колбу об'ємом 10 мл, вносили 0,10 мл концентрованої нітратної кислоти та доводили об'єм розчину до мітки деіонізованою водою, ретельно перемішували.

В ряд пластикових мірних колб об'ємом 10 мл вносили аліквоти робочих розчинів Pb та Cd (10 нг/мл та 100 нг/мл) за допомогою піпет-дозаторів з регульованим об'ємом дози 20 – 200 мкл та 100 -1000 мкл (див. табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Приготування серії калібрувальних розчинів Pb та Cd для вимірів на приладі
AAS-ETA

№	Концентрація Pb/Cd, нг/мл	Об'єм колби, мл	Маса елементу, нг	Об'єм робочого розчину (10 нг/мл), мкл	Об'єм стандартного розчину (100 нг/мл), мкл	Об'єм HNO ₃ , мл
1	0	10	0	0	0	2,0
2	0,1	10	1,0	100	-	2,0
3	0,5	10	5,0	500	-	2,0
4	1,0	10	10,0	-	100	2,0
5	2,0	10	20,0	-	200	2,0
6	5,0	10	50,0	-	500	2,0
7	10,0	10	100,0	-	1000	2,0

Серію калібрувальних розчинів для визначення As на приладі ICP-OES готували розведенням стандартного розчину Arsenic standard solution, 1000 мг/л.

Робочий розчин As (10 мкг/мл): 1,000 мл стандартного розчину Arsenic standard solution (1000 мг/л) за допомогою піпет-дозатора переносили у пластикову мірну колбу об'ємом 100 мл, вносили 1,00 мл концентрованої нітратної кислоти та доводили об'єм розчину до мітки деіонізованою водою, ретельно перемішували.

Робочий розчин As (100 нг/мл): 1,000 мл робочого розчину As (10 мкг/мл) за допомогою піпет-дозатора переносили у пластикову мірну колбу

об'ємом 100 мл, вносили 1,00 мл концентрованої нітратної кислоти та доводили об'єм розчину до мітки деіонізованою водою, ретельно перемішували.

Робочий розчин As (10 нг/мл): 1,000 мл робочого розчину As (100 нг/мл) за допомогою піпет-дозатора переносили у пластикову мірну колбу об'ємом 10 мл, вносили 0,10 мл концентрованої нітратної кислоти та доводили об'єм розчину до мітки деіонізованою водою, ретельно перемішували.

10%-ий розчин аскорбінової кислоти/калію йодиду готували розчиненням 5,0 г аскорбінової кислоти та 5,0г калію йодиду у деіонізованій воді у мірній колбі об'ємом 50 мл.

В ряд пластикових мірних колб об'ємом 10 мл вносили аліквоти робочих розчинів As (10 нг/мл та 100 нг/мл) за допомогою піпет-дозаторів з регульованим об'ємом дози 20 – 200 мкл та 100 -1000 мкл (див. табл. 2.3).

Розчини залишали на 40 хв. за кімнатної температури для кількісного відновлення As(V) до As(III).

Серію калібрувальних розчинів для визначення Se на приладі ICP-OES готували розведенням стандартного розчину Селену(IV), 1,00 мг/см³.

Робочий розчин Se (10 мкг/мл): 1,000 мл стандартного розчину Селену(IV) (1,00 мг/см³) за допомогою піпет-дозатора переносили у пластикову мірну колбу об'ємом 100 мл, вносили 1,00 мл концентрованої нітратної кислоти та доводили об'єм розчину до мітки деіонізованою водою, ретельно перемішували.

Робочий розчин Se (100 нг/мл): 1,000 мл робочого розчину Se (10 мкг/мл) за допомогою піпет-дозатора переносили у пластикову мірну колбу об'ємом 100 мл, вносили 1,00 мл концентрованої нітратної кислоти та доводили об'єм розчину до мітки деіонізованою водою, ретельно перемішували.

Таблиця 2.3

Приготування серії калібрувальних розчинів As для вимірів на приладі ICP-OES

№	Концентрація As, нг/мл	Об'єм колби, мл	Об'єм робочого розчину (10 нг/мл), мкл	Об'єм стандартного розчину (100 нг/мл), мкл	Об'єм концентрованої хлоридної кислоти, мл	Об'єм 10%-го розчину аскорбінової к-ти/ КІ, мл
1	0	10	0	0	2,5	4,5
2	0,1	10	100	-	2,5	4,5
3	0,5	10	500	-	2,5	4,5
4	1,0	10	-	100	2,5	4,5
5	2,0	10	-	200	2,5	4,5
6	5,0	10	-	500	2,5	4,5
7	10,0	10	-	1000	2,5	4,5
8	20,0	10	-	2000	2,5	4,5
9	30,0	10		3000	2,5	4,5

В ряд пластикових мірних колб об'ємом 50 мл вносили аліквоти робочих розчинів Se (100 нг/мл та 10 мкг/мл) за допомогою піпет-дозаторів з регульованим об'ємом дози 20 – 200 мкл та 100 -1000 мкл (див. табл. 2.4).

Колби щільно закривали пробками та витримували протягом 20 хв у сушильній шафі за температури 90°C для кількісного відновлення Se(VI) до Se(IV).

Таблиця 2.4

Приготування серії калібрувальних розчинів Se для вимірів на приладі ICP-OES

№	Концентрація Se, нг/мл	Об'єм колби, мл	Об'єм робочого розчину Se (100 нг/мл), мкл	Об'єм стандартного розчину Se (100 нг/мл), мкл	Об'єм концентрованої хлоридної кислоти, мл
1	0	50	0	0	10
2	0,5	50	250	-	10
3	1,0	50	500	-	10
4	2,0	50	1000	-	10
5	5,0	50	2500	-	10
6	10,0	50	5000	-	10
7	20,0	50	-	100	10
8	50,0	50	-	250	10

2.3.3. Визначення вмісту Cd та Pb у лікарських засобах методом AAS-ETA

Визначення Cd та Pb у досліджуваних зразках проводили на атомно-абсорбційному спектрометрі з електротермічною атомізацією. Умови проведення вимірів вказано в табл. 2.5, 2.6.

Правильність отримуваних значень контролювали графічним методом добавок. До PFA-лайнру та кварцевого тигля зі зразком вводили розраховану кількість аналіту Pb (0,20 мкг) та Cd (0,10 мкг). Концентрацію аналіту в отриманому розчині ($V_{\text{колби}} = 100$ мл) визначали методом добавок.

Таблиця 2.5

Оптимальні умови визначення Рв у досліджуваних зразках

Довжина хвилі, нм:	283,3
Щілина, нм:	0,7
Режим вимірювання:	D ₂ -корекція фону
Об'єм інжекції, мкл:	20,0
Обробка сигналу:	Висота піку
Температура атомізації, °С:	2000

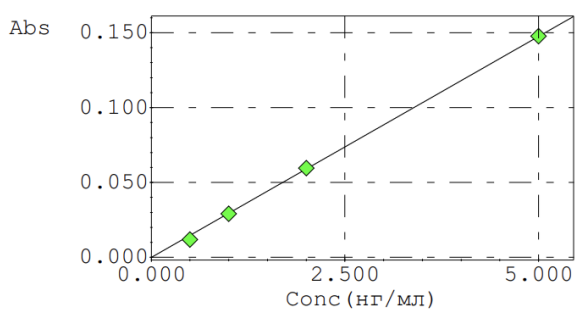
Таблиця 2.6

Оптимальні умови визначення Сd у досліджуваних зразках

Довжина хвилі, нм:	228,8
Щілина, нм:	0,7
Режим вимірювання:	D ₂ -корекція фону
Об'єм інжекції, мкл:	20,0
Обробка сигналу:	Площа піку
Температура атомізації, °С:	2000

На рис. 2.1-2.3 показана калібрувальна крива для визначення Сd, визначена концентрація Сd у зразку з добавкою становила 1,1128 нг/мл, що відповідає вмісту 0,11 мкг, яку вводили до 1 таблетки препарату «Дуовіт», а також визначена концентрація Рв у зразку з добавкою становила 1,8525 нг/мл, що відповідає вмісту 0,19 мкг, яку вводили до 1 таблетки препарату «Дуовіт», мікрохвильове розкладання.

Калибровочная кривая : 01)



Conc (нг/мл)	Abs
0.5000	0.0119
1.0000	0.0292
2.0000	0.0596
5.0000	0.1477

$$\text{Abs} = 0.029516 \text{Conc} + 0.00000$$

$$r = 0.9998$$

Рис. 2.1. Калібрувальна залежність для визначення Cd. Діапазон лінійності: 0,5 – 5,0 нг/мл

№ розчину	X	Y
	C добавки, нг/мл	A
1	0	0,0296
2	1	0,0562
3	2	0,0842
4	3	0,1084

$$y = kx + b$$

$$y = 0$$

k=	0,0266
b=	0,0296
x=	1,112782

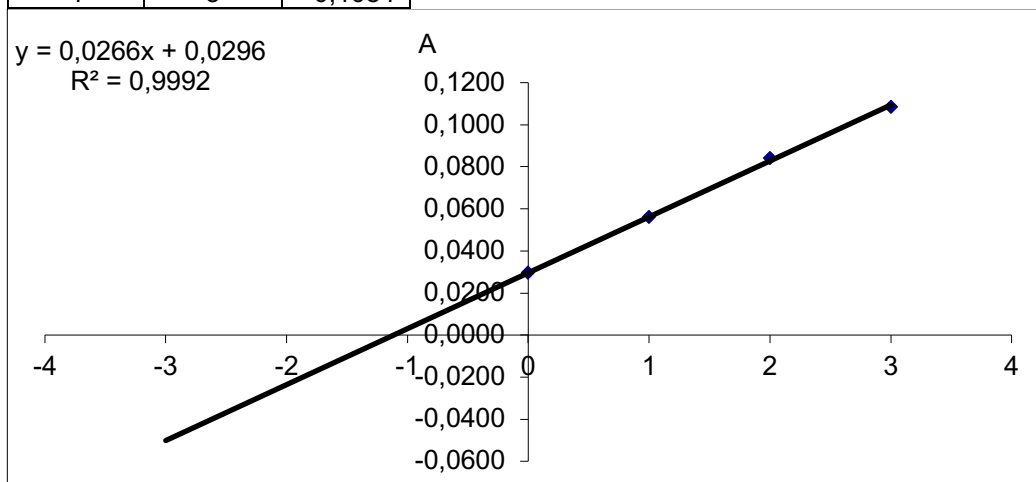


Рис. 2.2. Знайдена концентрація Cd у зразку з добавкою становила 1,1128 нг/мл, що відповідає вмісту 0,11 мкг (добавку вводили до 1 таблетки (блакитна) препарату «Дуовіт», мікрохвильове розкладання)

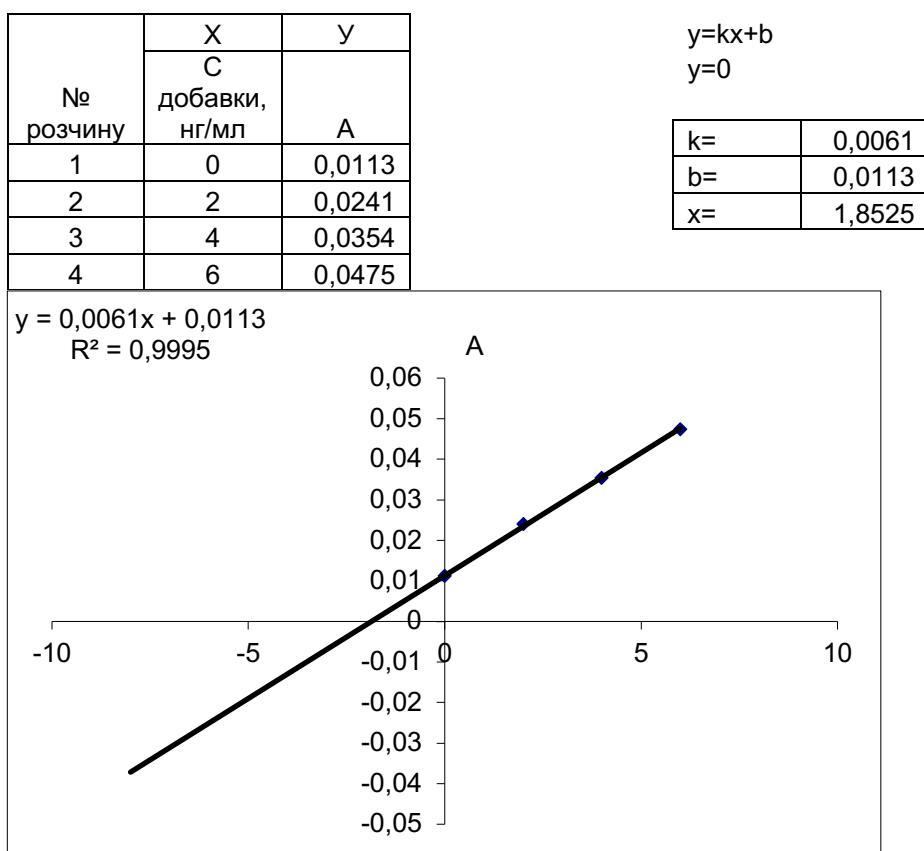
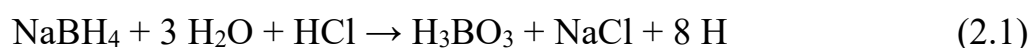
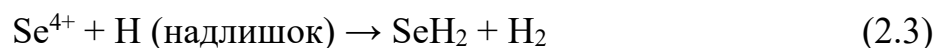
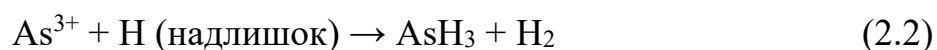


Рис. 2.3. Знайдена концентрація Рb у зразку з добавкою становила 1,8525 нг/мл, що відповідає вмісту 0,19 мкг (добавку вводили до 1 таблетки (блакитна) препарату «Дуовіт», мікрохвильове розкладання). Діапазон лінійності калібровочного графіку: 0,5-10 нг/мл

2.3.4. Визначення вмісту As та Se у лікарських засобах методом ICP-OES

Кількісне визначення As та Se в досліджуваних зразках лікарських препаратів проводили на приладі ICP-OES в комплекті з борогідридною приставкою, що значно збільшує чутливість визначення. Мають місце наступні реакції:





2%-ний розчин борогідриду натрію готували шляхом розчинення 0,5г натрію гідроксиду та 2,0г натрію борогідриду у 1,0 л деіонізованої води. Розчин готували безпосередньо перед початком вимірювань.

Таблиця 2.7

Оптимальні умови визначення As та Se у досліджуваних зразках методом ICP-OES в комплекті з борогідридною приставкою

Wavelength, nm:	As 188,982 Se 196,026
Purge gas flow:	High
Delay time, sec:	60
Spectral window, nm:	As 188,895 – 189,063 Se 195,938 – 196,107
Source equilibration delay, sec:	15
Plasma, L/min:	10
Aux, L/min:	0,3
Neb, L/min:	0,50
Power, watts:	1500
Plasma view:	Axial
Sample flow rate, ml/min:	1.00

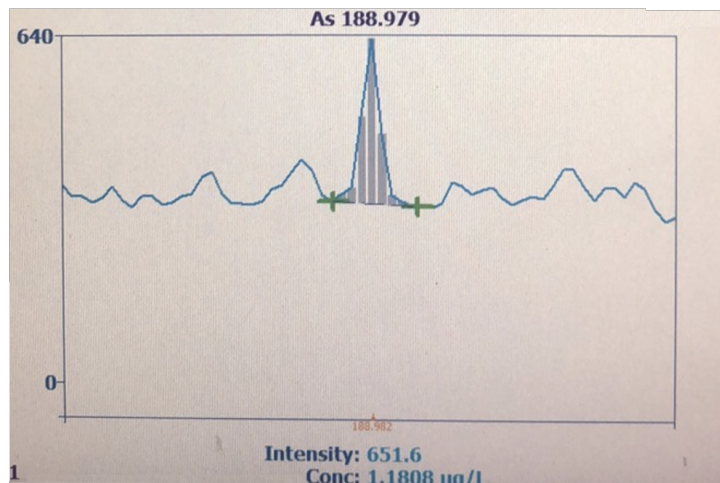


Рис. 2.4. Емісійний спектр As ($\lambda = 188,982$ нм).

Підготовка розчинів для визначення As: 1,0 мл аліквоти розчинів досліджуваних зразків після мінералізації переносили у пластикові мірні колби об'ємом 10 мл, додавали 2,5 мл концентрованої хлоридної кислоти, 4,5 мл 10%-го розчину аскорбінової кислоти/ калію йодиду, витримували розчини протягом 40 хв при кімнатній температурі для відновлення As(V) до As(III). Далі доводили об'єм розчинів до мітки деіонізованою водою, ретельно перемішували (розчини повинні бути безбарвними). Dilution factor = 10.

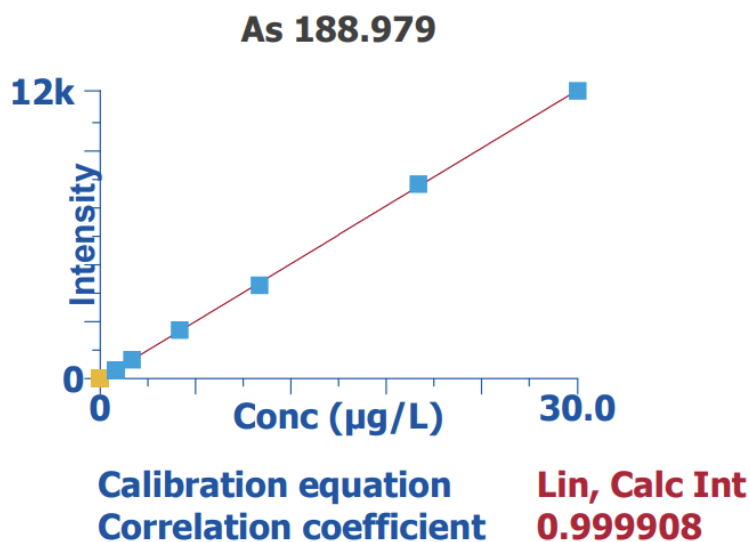


Рис. 2.5. Калібрувальна залежність для визначення As. Діапазон лінійності: 0,1 – 30 нг/мл.

Підготовка розчинів для визначення Se: 10,0 мл аліквоти розчинів досліджуваних зразків після мінералізації переносили у пластикові мірні колби об'ємом 50 мл, додавали 10 мл концентрованої хлоридної кислоти, щільно закривали пробками, розчини витримували у сушільній шафі при 90°C протягом 20 хв для відновлення Se(VI) до Se(IV). Далі охолоджували колби до кімнатної температури, доводили об'єм розчинів до мітки деіонізованою водою, ретельно перемішували. Dilution factor = 5.

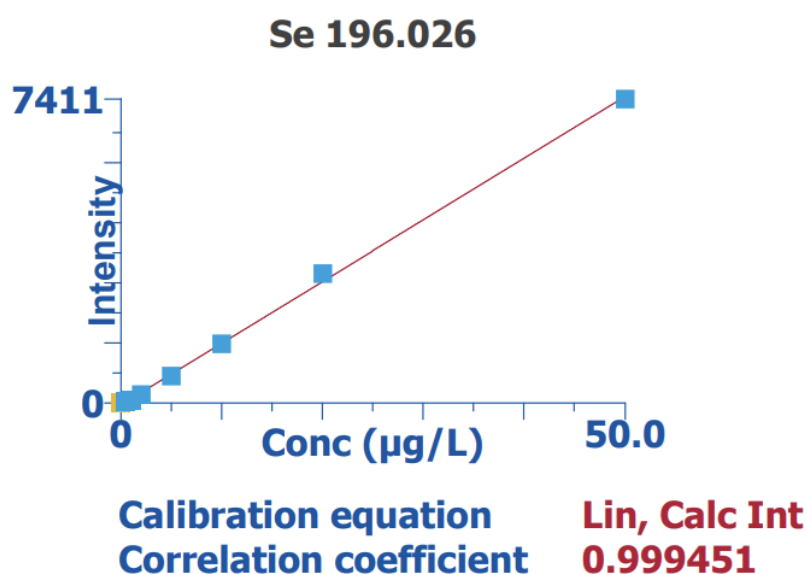


Рис. 2.6. Калібрувальна залежність для визначення Se. Діапазон лінійності: 0,5-50 нг/мл.

2.3.5. Визначення вмісту Cu та Zn у лікарських засобах методом ICP-OES

Підготовка розчинів для визначення Cu та Zn: 10,0 мл аліквоти розчинів досліджуваних зразків після мінералізації переносили у пластикові мірні колби об'ємом 100 мл, доводили об'єм розчинів до мітки деіонізованою водою, ретельно перемішували. Dilution factor = 10.

Оптимальні умови визначення Cu та Zn у досліджуваних зразках методом
ICP-OES

Wavelength, nm:	Zn 213,857 Cu 324,759
Purge gas flow:	Normal
Delay time, sec:	45
Spectral window, nm:	Zn 213,761 – 213,953 Cu 324,609 – 324,895
Source equilibration delay, sec:	15
Plasma, L/min:	8
Aux, L/min:	0,2
Neb, L/min:	0,70
Power, watts:	1500
Plasma view:	Axial
Sample flow rate, ml/min:	1.20
Flush time, sec:	20

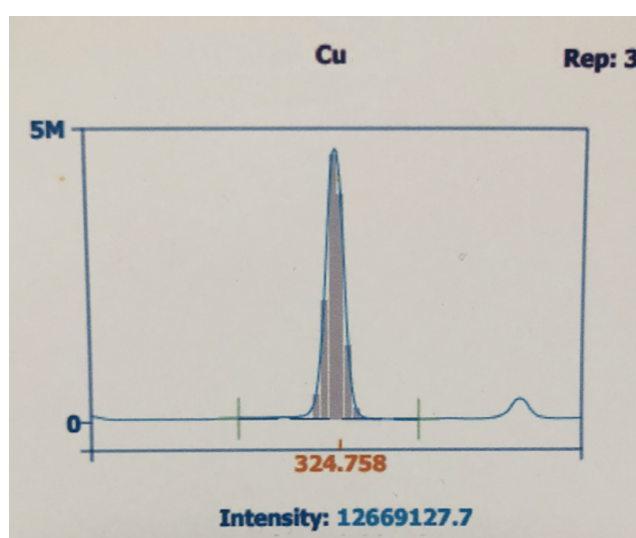


Рис. 2.7. Емісійний спектр Cu (концентрація 3 мкг/мл)

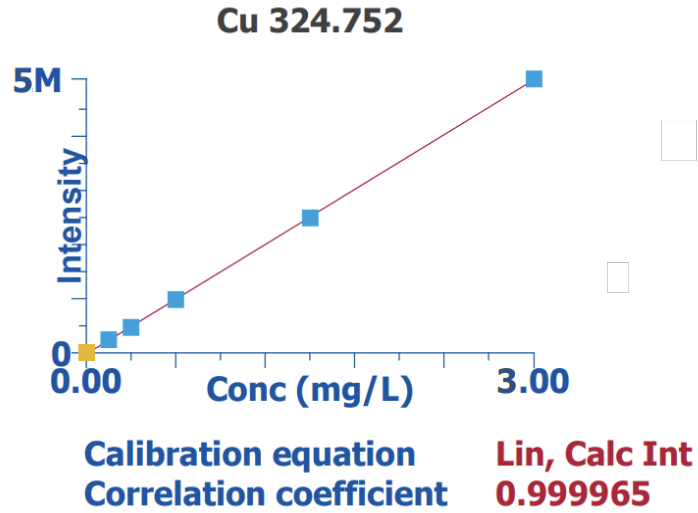


Рис. 2.8. Калібрувальна залежність для визначення Cu. Діапазон лінійності: 1-3 мкг/мл.

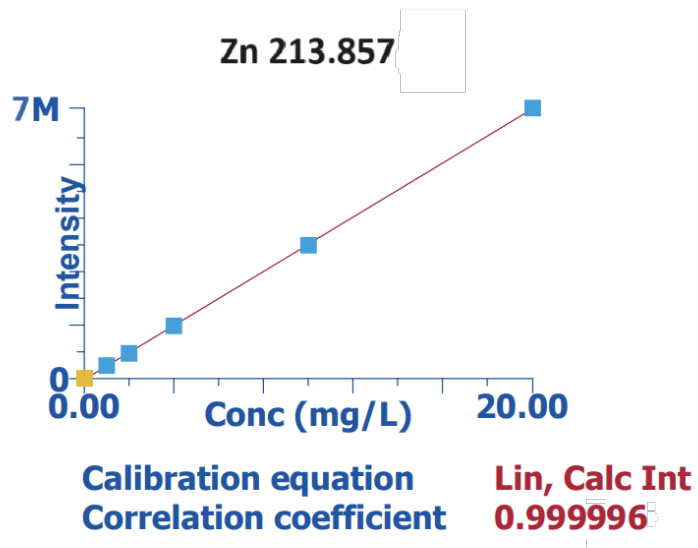


Рис. 2.9. Калібрувальна залежність для визначення Zn. Діапазон лінійності: 1-20 мкг/мл.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Встановлено, що використання методу «сухої» мінералізації призводить до суттєвих втрат As (добавка 1,0 мкг до 1 блакитної таблетки препарату «Дуовіт») та Se (добавка 1,0 мкг до 1 блакитної таблетки препарату «Дуовіт») та є не придатною для подальшого визначення цих елементів. Метод мінералізації з використанням мікрохвильового випромінювання дозволяє уникнути втрат цих елементів.

Розрахунок вмісту елементів проводили за формулою:

$$M = C \cdot V \cdot D, \quad (3.1)$$

M – маса визначуваного елемента у 1 таблетці досліджуваного лікарського засобу, мкг;

C – масова концентрація елемента, мкг/мл;

V – об'єм мірної колби, мл;

D – фактор розведення.

Таблиця 3.1

Результати розрахунку % повернення As та Se для добавки 1,00 мкг до 1 таблетки (блакитна) препарату «Дуовіт» при проведенні мікрохвильової мінералізації за допомогою системи MARS Xpress (n = 5, P= 0.95)

Елемент	Введено, мкг	Знайдено, мкг	% повернення
As	1,00	1,175 ± 0,139	117,5
Se	1,00	1,096 ± 0,116	109,6

Таблиця 3.2

Результати розрахунку % повернення Cd (0,10 мкг) та Pb (0,20 мкг) для добавки до 1 таблетки (блакитна) препарату «Дуовіт» (n = 5, P= 0.95)

Елемент	«суха» мінералізація			MARS Xpress		
	Введено, мкг	Знайдено, мкг	% повернення	Введено, мкг	Знайдено, мкг	% повернення
Cd	0,10	0,095 ± 0,019	94,6	0,10	0.104 ± 0,013	104,4
Pb	0,20	0.182 ± 0,026	91,3	0,20	0.191 ± 0,022	95,5

Таблиця 3.3

Межі кількісного визначення аналітів (LOQ)

Елемент	Прилад	LOQ, нг/мл	LOQ, мкг
			(у перерахунку на 1 таблетку)
As	ICP-OES (Hydride generation)	0,5	0,50
Se	ICP-OES (Hydride generation)	0.5	0,25
Cd	AAS-ETA	0.5	0,05
Pb	AAS-ETA	0.5	0,05
Cu	ICP-OES	10	10,0
Zn	ICP-OES	50	50,0

Результати визначення As, Se, Cd, Pb, Cu, Zn у лікарських засобах «Супервіт», «Вітахелс», «Супрадин», «Дуовіт» наведено у табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Вміст As, Se, Cd, Pb, Cu, Zn у досліджуваних препаратах: «Супервіт», «Вітахелс», «Супрадин», «Дуовіт» (n=5, P=0,95)

Елемент	Вміст, мкг/таблетка			
	«Супервіт»	«Вітахелс»	«Супрадин»	«Дуовіт»
As	< 0,50	<0,50	<0,50	<0,50
Se	49,71 ± 0,56	46.27 ± 0,38	49,83 ± 0,41	<0,25
Cd	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Pb	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Cu	1962 ± 51	924 ± 19	990 ± 23	986 ± 37
Zn	14847 ± 89	7956 ± 67	964 ± 53	2921 ± 62

ВИСНОВКИ

1. Розглянуто можливості «сухої» мінералізації та мінералізації з використанням приладу для мікрохвильового розкладання зразків Mars Xpress для підготовки зразків для спектрометричного випробування. Показано, що MARS Xpress є більш швидким, втрат слідових кількостей елементів As, Se, Pb та Cd не відбувається. Метод «сухої» мінералізації не є придатним для визначення As та Se у досліджуваних лікарських засобах, оскільки мають місце значні втрати аналітів.
2. Встановлено оптимальні умови для визначення вмісту важких елементів методами атомної спектрометрії в зразках комплексів вітамінів та мінералів «Супервіт», «Вітахелс», «Супрадин», «Дуовіт» (блакитні таблетки).
3. Розраховано, що значення LOQ для визначення As, Se, Cd, Pb, Cu, Zn у зразках досліджуваних мінеральних комплексів складає відповідно: 0,50; 0,25; 0,05; 0,05; 10,0 та 50,0 мкг/таблетка.
4. Знайдено, що у досліджуваних зразках лікарських препаратів вміст токсичних елементів (As, Cd, Pb) не перевищує значення LOQ.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ali H., Khan E., Ilahi I. Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. *J. Chem.*, 2019. P. 6730305.
2. Rengel Z. Heavy Metals as Essential Nutrients Heavy Metal Stress in Plants. *Springer, Berlin, Heidelberg*, 2004, P.271-294.
3. Banfalvi G. Heavy Metals Trace Elements and Their Cellular Effects Cellular Effects of Heavy Metals. *Springer, Netherlands, Dordrecht*, 2011, P.3-28.
4. Tchounwou P.B., Yedjou C.G., Patlolla A.K., Sutton D.J. Heavy Metal Toxicity and the Environment Molecular, Clinical and Environmental Toxicology. *Experientia Supplementum*, 101, Springer, Basel. 2012.
5. Ali H., Khan E. Bioaccumulation of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in freshwater fish Risk to human health. *Environ. Chem. Lett.*, Vol. 16, 2018, P.903-917.
6. Jyothi N.R. Heavy Metal Sources and Their Effects on Human Health Heavy Metals - Their Environmental Impacts and Mitigation. *IntechOpen*, 2021.
7. Javaid A., Akbar I., Javed H., Khan U., Iftikhar H., Zahra D., Rashid F., Ashfaq U.A. Role of Heavy Metals in Diabetes: Mechanisms and Treatment Strategies. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.*, Vol. 31, 2021, P.65-80.
8. Cai J., Li Y., Liu S., Liu Q., Min xu, Zhang J., Wei Y., Mo X., Lin Y., Tang X., Mai T., Mo C., Luo T., Huang S., Lu H., Zhang Z., Qin J. Associations between multiple heavy metals exposure and glycated hemoglobin in a Chinese population. *Chemosphere*, Vol. 287, 2022, Article 132159.
9. Sevim Ç., Doğan E., Comakli S. Cardiovascular disease and toxic metals. *Curr. Opin. Toxicol.*, Vol. 19, 2020, P. 88-92.

10. Yang A., Lo K., Zheng T., Yang J., Bai Y., Feng Y., Cheng N., Li S. Environmental heavy metals and cardiovascular diseases: Status and future direction. *Chronic Dis. Transl. Med.*, Vol. 6, 2020, P.251-259.
11. Kothapalli C.R. Differential impact of heavy metals on neurotoxicity during development and in aging central nervous system. *Curr. Opin. Toxicol.*, Vol. 26, 2021, P.33-38.
12. Caito S., Aschner M. Neurotoxicity of metals. *Handbook of Clinical Neurology*, Vol. 131, 2015, P.169-189.
13. Engwa G.A., Ferdinand P.U., Nwalo F.N., Unachukwu M.N. Mechanism and Health Effects of Heavy Metal Toxicity in Humans Poisoning in the Modern World - New Tricks an Old Dog? *IntechOpen*, 2019.
14. Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K.N. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip. Toxicol.*, Vol. 7, 2014, P.60-72.
15. Ratnaik R.N. Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgrad. Med. J*, Vol. 79, 2003, P.391-396.
16. Rice K.M., Walker E.M., Wu M., Gillette C., Blough E.R. Environmental mercury and its toxic effects. *J. Prev. Med. Public Heal*, Vol. 47, 2014, P.74-83.
17. Haidar Z., Fatema K., Samad Shoily S, Ashfaqur Sajib A. Disease-associated metabolic pathways affected by heavy metals and metalloids. *Toxicology Reports*, Vol. 10, 2023, P.554-570.
18. Chen C.J., Wang S.L., Chiou J.M., Tseng C.H., Chiou H.Y., Hsueh Y.M., Chen S.Y., Wu M.M., Lai M.S. Arsenic and diabetes and hypertension in human populations: A review. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, Vol. 222, 2007, P.298-304.
19. Walton F.S., Harmon A.W., Paul D.S., Drobná Z., Patel Y.M., Styblo M. Inhibition of insulin-dependent glucose uptake by trivalent arsenicals:

- Possible mechanism of arsenic-induced diabetes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, Vol.198, 2004, P.424-433.
20. Wang C.H., Hsiao C.K., Chen C.J.C.L., Hsu L.I., Chiou H.Y., Chen S.Y., Hsueh Y.M., Wu M.M., Chen C.J.C.L. A review of the epidemiologic literature on the role of environmental arsenic exposure and cardiovascular diseases. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, Vol. 222, 2007, P. 315-326.
 21. Argos M., Parvez F., Rahman M., Rakibuz-Zaman M., Ahmed A., Hore S.K., Islam T., Chen Y., Pierce B.L., Slavkovich V., Olopade C., Yunus M., Baron J.A., Graziano J.H., Ahsan H. Arsenic and lung disease mortality in Bangladeshi adults. *Epidemiology*, Vol. 25, 2014, P.536-543.
 22. Brinkel J., Khan M.H., Kraemer A. A systematic review of arsenic exposure and its social and mental health effects with special reference to Bangladesh. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, Vol. 6, 2009, P.1609-1619.
 23. O'Bryant S.E., Edwards M., Menon C.V., Gong G., Barber R. Long-term low-level arsenic exposure is associated with poorer neuropsychological functioning: A project FRONTIER study. *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, Vol. 8, 2011, P.861-874.
 24. Zheng L., Kuo C.C., Fadrowski J., Agnew J., Weaver V.M., Navas-Acien A. Arsenic and Chronic Kidney Disease: A Systematic Review. *Curr. Environ. Heal. Reports.*, Vol. 1, 2014, P.192-207.
 25. Martinez V.D., Vucic E.A., Becker-Santos D.D., Gil L., Lam W.L. Arsenic exposure and the induction of human cancers. *J. Toxicol.*, 2011, Article 431287.
 26. Ratnaike R.N. Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgrad. Med. J.*, Vol. 79, 2003, P.391-396.
 27. Dastgiri S., Mosaferi M., Fizi M.A.H., Olfati N., Zolali S., Pouladi N., Azarfam P. Arsenic exposure, dermatological lesions, hypertension, and chromosomal abnormalities among people in a rural community of northwest Iran. *J. Heal. Popul. Nutr.*, Vol. 28, 2010, P.14-22.

28. Edwards J.R., Prozialeck W.C. Cadmium, diabetes and chronic kidney disease. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, Vol. 238, 2009, P.289-293.
29. Tellez- Plaza M., Guallar E., Howard B.V., Umans J.G., Francesconi K.A., Goessler W., Silbergeld E.K., Devereux R.B., Navas-Acien A. Cadmium exposure and incident cardiovascular disease. *Epidemiology*, Vol. 24, 2013, P.421-429.
30. Luevano J., Damodaran C. A review of molecular events of cadmium-induced carcinogenesis. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, Vol. 33, 2014, P.183-194.
31. Kundu S., Sengupta S., Chatterjee S., Mitra S., Bhattacharyya A. Cadmium induces lung inflammation independent of lung cell proliferation: a molecular approach. *J. Inflamm.*, Vol. 6, 2009, P.19.
32. Fatima G., Raza A.M., Hadi N., Nigam N., Mahdi A.A., Mehdi A., Najah R., Nitu H. Cadmium in Human Diseases: It's More than Just a Mere Metal. *Indian J. Clin. Biochem.*, Vol. 34, 2019, P. 371-378.
33. Wang B., Du Y. Cadmium and Its Neurotoxic Effects. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2013, Article 898034.
34. Prozialeck W.C., Edwards J.R. Mechanisms of cadmium-induced proximal tubule injury: new insights with implications for biomonitoring and therapeutic interventions. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, Vol.343, 2012, P.2-12.
35. Orr S., Bridges C. Chronic Kidney Disease and Exposure to Nephrotoxic Metals. *Int. J. Mol. Sci.*, Vol. 18, 2017, P.1039.
36. Gutiérrez-bedmar M., Martínez-gonzález M.Á., Muñoz-Bravo C., Ruiz-Canela M., Mariscal A., Salas-Salvadó J., Estruch R., Corella D., Arós F., Fito M., Lapetra J., Serra-Majem L., Pintó X., Alonso-Gómez Á., Portoles O., Fiol M., Bulló M., Castañer O., Ros E., Gómez-Gracia E. Chromium exposure and risk of cardiovascular disease in high cardiovascular risk subjects: Nested case-control study in the prevention

- with mediterranean diet (PREDIMED) study. *Circ. J.*, Vol.81, 2017, P.1183-1190.
37. Lieberman H. Chrome Ulcerations of the Nose and Throat. *N. Engl. J. Med*, Vol. 225, 1941, P.132-133.
 38. Royle H. Toxicity of chromic acid in the chromium plating industry. *Environ. Res.*, Vol. 10, 1975, P.141-163.
 39. Sharma B.K., Singhal P.C., Chugh K.S. Intravascular haemolysis and acute renal failure following potassium dichromate poisoning. *Postgrad. Med. J.*, Vol. 54, 1978, P.414-415.
 40. Wedeen R.P., Qian L.F. Chromium-induced kidney disease. *Environ. Health Perspect.*, Vol. 92, 1991, P.71-74.
 41. Binazzi A., Ferrante P., Marinaccio A. Occupational exposure and sinonasal cancer: a systematic review and meta-analysis *BMC Cancer*, Vol. 15, 2015, P.49.
 42. Park R.M., Bena J.F., Stayner L.T., Smith R.J., Gibb H.J., Lees P.S.J. Hexavalent chromium and lung cancer in the chromate industry: A quantitative risk assessment. *Risk Anal*, Vol. 24, 2004, P.1099-1108.
 43. Barceloux D.G. Chromium, *J. Toxicol*, Vol. 37, 1999, P.173-194.
 44. Simcox J.A., McClain D.A. Iron and diabetes risk. *Cell Metab*, Vol. 17, 2013, P.329-341.
 45. Day S.M., Duquaine D., Mundada L.V., Menon R.G., Khan B.V., Rajagopalan S., Fay W.P. Chronic iron administration increases vascular oxidative stress and accelerates arterial thrombosis. *Circulation.*, Vol. 107, 2003, P.2601-2606.
 46. Ali M.K., Kim R.Y., Karim R., Mayall J.R., Martin K.L., Shahandeh A., Abbasian F., Starkey M.R., Loustaud-Ratti V., Johnstone D., Milward E.A., Hansbro P.M., Horvat J.C. Role of iron in the pathogenesis of respiratory disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, Vol. 88, 2017, P.181-195.

47. Hironishi M., Ueyama E., Senba E. Systematic expression of immediate early genes and intensive astrocyte activation induced by intrastriatal ferrous iron injection. *Brain Res*, Vol. 828, 1999, P.145-153.
48. van Swelm R.P.L., Wetzels J.F.M., Swinkels D.W. The multifaceted role of iron in renal health and disease. *Nat. Rev. Nephrol.*, Vol. 16, 2020, P.77-98.
49. Miyanishi K., Tanaka S., Sakamoto H., Kato J. The role of iron in hepatic inflammation and hepatocellular carcinoma. *Free Radic. Biol. Med.*, Vol. 133, 2019, P.200-205.
50. Vela D., Vela-Gaxha Z. Differential regulation of hepcidin in cancer and non-cancer tissues and its clinical implications. *Exp. Mol. Med.*, Vol. 50, 2018, Article e436.
51. Torti S.V., Torti F.M. Iron and cancer: More ore to be mined. *Nat. Rev. Cancer.*, Vol. 13, 2013, P.342-355.
52. Tinkov A.A., Ajsuvakova O.P., Skalnaya M.G., Popova E.V., Sinitskii A.I., Nemereshina O.N., Gatiatulina E.R., Nikonorov A.A., Skalny A.V. Mercury and metabolic syndrome: A review of experimental and clinical observations. *BioMetals.*, Vol. 28, 2015, P.231-254.
53. Alissa E.M., Ferns G.A. Heavy Metal Poisoning and Cardiovascular Disease. *J. Toxicol*, 2011, Article 870125.
54. Rice K.M., Walker E.M., Wu M., Gillette C., Blough E.R. Environmental mercury and its toxic effects. *J. Prev. Med. Public Heal*, Vol. 47, 2014, P.74-83.
55. Tchounwou P.B., Ayensu W.K., Ninashvili N., Sutton D. Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health. *Environ. Toxicol.*, Vol. 18, 2003, P.149-175.
56. Jackson A.C. Chronic Neurological Disease Due to Methylmercury Poisoning. *J. Can. Des Sci. Neurol.*, Vol. 45, 2018, P.620-623.
57. Zalups R.K. Molecular interactions with mercury in the kidney. *Pharmacol. Rev.*, Vol. 52, 2000, P.113-143.

58. Tan S.W., Meiller J.C., Mahaffey K.R. The endocrine effects of mercury in humans and wildlife. *Crit. Rev. Toxicol.*, Vol. 39, 2009, P.228-269.
59. Zhu X., Kusaka Y., Sato K., Zhang Q. The endocrine disruptive effects of mercury. *Environ. Health Prev. Med.*, Vol. 4, 2000, P.174-183.
60. Liu G., Sun L., Pan A., Zhu M., Li Z., Wang Z., Liu X., Ye X., Li H., Zheng H., Ong C.N., Yin H., Lin X., Chen Y. Nickel exposure is associated with the prevalence of type 2 diabetes in Chinese adults. *Int. J. Epidemiol.*, Vol. 44, 2015, P.240-248.
61. Niu J., Liberda E.N., Qu S., Guo X., Li X., Zhang J., Meng J., Yan B., Li N., Zhong M., Ito K., Wildman R., Liu H., Chen L.C., Qu Q. The role of metal components in the cardiovascular effects of PM 2.5 *PLoS One*, Vol. 8, 2013, Article e83782.
62. Das K.K., Reddy R.C., Bagoji I.B., Das S., Bagali S., Mullur L., Khodnapur J.P., Biradar M.S. Primary concept of nickel toxicity – an overview. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol*, Vol. 30, 2019, P.141-152.
63. Genchi G., Carocci A., Lauria G., Sinicropi M.S., Catalano A. Nickel: Human health and environmental toxicology. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, Vol. 17, 2020, P.679.
64. Lamtai M., Chaibat J., Ouakki S., Zghari O., Essamri A., Ouichou A., Mesfioui A., El Hessni A., Rifi E.H., Marmouzi I., Essamri A., Ouichou A. Effect of Chronic Administration of Nickel on Affective and Cognitive Behavior in Male and Female Rats: Possible Implication of Oxidative Stress Pathway. *Brain Sci*, Vol. 8, 2018, P.141.
65. Song X., Kenston S.S.F., Kong L., Zhao J. Molecular mechanisms of nickel induced neurotoxicity and chemoprevention. *Toxicology.*, Vol. 392, 2017, P.47-54.
66. Rodríguez J., Mandalunis P.M. A Review of Metal Exposure and Its Effects on Bone Health. *J. Toxicol.*, 2018, P.4854152.

67. Fischer R.S.B., Unrine J.M., Vangala C., Sanderson W.T., Mandayam S., Murray K.O. Evidence of nickel and other trace elements and their relationship to clinical findings in acute Mesoamerican Nephropathy: A case-control analysis. *PLoS One*, Vol. 15, 2020, Article e0240988.
68. Rizzi A., Nucera E., Laterza L., Gaetani E., Valenza V., Corbo G.M., Inchingolo R., Buonomo A., Schiavino D., Gasbarrini A. Irritable bowel syndrome and nickel allergy: What is the role of the low nickel diet? *J. Neurogastroenterol. Motil*, Vol. 23, 2017, P.101-108.
69. Fortoul T.I., Rojas-Lemus M., Rodriguez-Lara V., Gonzalez-Villalva A., Ustarroz-Cano M., Cano-Gutierrez G., Gonzalez-Rendon S.E., Montaña L.F., Altamirano-Lozano M. Overview of environmental and occupational vanadium exposure and associated health outcomes: An article based on a presentation at the 8th international symposium on vanadium chemistry, biological chemistry, and toxicology, Washington DC, august 15-18, 2014, *J. Immunotoxicol*, Vol. 11, 2014, P.13-18.
70. Folarin O.R., Snyder A.M., Peters D.G., Olopade F., Connor J.R., Olopade J.O. Brain metal distribution and neuro-inflammatory profiles after chronic vanadium administration and withdrawal in mice. *Front. Neuroanat.*, Vol. 11, 2017.
71. Araujo-Barbosa U., Pena-Vazquez E., Barciela-Alonso M.C., Costa Ferreira S.L., Pinto Dos Santos A.M., Bermejo-Barrera P. Simultaneous determination and speciation analysis of arsenic and chromium in iron supplements used for iron-deficiency anemia treatment by HPLC-ICP-MS. *Talanta*, Vol. 170, 2017, P.523-529.
72. Pohl P., Bielawska-Pohl A., Dzimitrowicz A., Jamroz P., Welna M., Impact and practicability of recently introduced requirements on elemental impurities. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. Vol. 101, 2018, P.43-55.

73. Roy Chowdhury A., Maheshwari N., Soni J., Kapil M., Mehta T., Mukharya A. Quantitative X-ray fluorescence analysis: Trace level detection of toxic elemental impurities in drug product by ED-XRF spectrometer. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2020.
74. Lasztity A., Kelko-Levai A., Varga I., Zih-Perenyi K., Bertalan E. Development of atomic spectrometric methods for trace metal analysis of pharmaceuticals. *Microchemical Journal*, Vol. 73, 2002, P.59–63.
75. Kelko-Levai U.A., Varga I., Zih-Perenyi K. Determination of trace elements in pharmaceutical substances by graphite furnace atomic absorption spectrometry and total reflection X-ray fluorescence after flow injection ion-exchange preconcentration. *A. L Spectrochimica Acta*, Part B, Vol. 54, 1999, P.827-833.
76. ICP-MS: Analytical Method for Identification and Detection of Elemental Impurities December 2016, *Current Drug Discovery Technologies*. 14(2).
77. Balaram V. Recent advances in the determination of elemental impurities in pharmaceuticals – Status, challenges and moving frontiers. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 80, 2016, P.83–95.
78. Barin J.S., Tischer B., Picoloto R.S., Antes F.G., da Silva F.E.B., Paula R.F., Flores E.M.M. Determination of Toxic Elements in Tricyclic Active Pharmaceutical Ingredients by ICP-MS: A Critical Study of Digestion Methods. *Journal of Analytical Spectrometry*, 2013.
79. Chuang I.C., Chen K.S., Huang Y.L., Lee P.N., Lin T.H. Determination of Trace Elements in Some Natural Drugs by Atomic Absorption Spectrometry. *Biological Trace Element Research*, Vol. 76, 2000, P.235-244.
80. Genuis S.J., Schwalfenberg G., Siy A.K.J., Rodushkin I. Toxic Element Contamination of Natural Health Products and Pharmaceutical Preparations *PLoS ONE*, Vol. 7(11), Article e49676.

81. Gomez M.R., Cerutti S., Sombra L.L., Silva M.F., Martinez L.D. Determination of heavy metals for the quality control in argentinian herbal medicines by ETAAS and ICP-OES. *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 45, 2007, P.1060–1064.
82. Huang J., Hu X., Zhang J., Li K., Yan Y., Xu X. The application of inductively coupled plasma mass spectrometry in pharmaceutical and biomedical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 40, 2006, P.227–234.
83. Jia X., Wang T., Wu J. Determination of palladium by graphite furnace atomic absorption spectroscopy without matrix matching. *Talanta*, Vol. 54, 2001, P.741–751.
84. Jia X., Wang T., Bu X., Tu Q., Spencer S. Determination of ruthenium in pharmaceutical compounds by graphite furnace atomic absorption spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 41, 2006, P.43–47.
85. Kaczala S., Costa A.B., Posselt E.L., Barin J.S., Flores E.M.M., Dressler V.L. Element Determination in Pharmaceuticals Using Direct Solid Analysis Electrothermal Vaporization Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. *J. Braz. Chem. Soc.*, 2015, Vol. 26, No. 3, P.475-483.
86. Kalny P., Fijałek Z., Daszczuk A., Ostapczuk P. Determination of selected microelements in polish herbs and their infusions. *Science of the Total Environment*, Vol. 381, 2007, P.99–104.
87. Lewen N., Schenkenberger M., Larkin T., Conder S., Brittain H.G. The determination of palladium in fosinopril sodium (monopril) by ICP-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 13, 1995, P.879-883.

88. Lewen N. The use of atomic spectroscopy in the pharmaceutical industry for the determination of trace elements in pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 55, 2011, P.653–661.
89. Wang T., Wu J., Hartman R., Jia X., Egan R.S. A multi-element ICP-MS survey method as an alternative to the heavy metals limit test for pharmaceutical materials. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 23, 2000, P.867–890.