МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Імені В.Н.Каразіна

Кафедра хімічної метрології

УДК 543.442.5

До захисту допускаю

_____ Завідувач кафедри

«17» травня 2025р. д.х.н. проф.О.І. Юрченко

АТОМНО-АБСОРБЦІЙНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛІЗА, СВИНЦЮ ТА МАГНІЮ В ФАРМАЦЕВТИЧНИХ СУБСТАНЦІЯХ

Кваліфікаційна робота
Магістра ІІ курсу
хімічного факультету
ШЕЙФЕР АНАСТАСІЇ
МИХАЙЛІВНИ

Науковий керівник

д.х.н., проф. Юрченко О.І.

ХАРКІВ 2025

Реферат

Кваліфікаційна робота містить: 37 стор., 3 рис., 1 фото, 14 табл.

Мета: розробити методику атомно-абсорбційного визначення аналітів в фармацевтичних субстанціях з покращеними метрологічними характеристиками.

Об'єкти дослідження: натрій хлорид, аскорбінова кислота, тальк, надані на дослідження фармацевтичною компанією «Здоров'я».

Методи дослідження: атомно-абсорбційна спектроскопія (С-115-МІ) та ультразвукова обробка 20 хв. (PS- 20).

Результати роботи та їх новизна: застосування ультразвукової обробки зразків протягом 20 хв. забезпечило ефективне вилучення аналітів для подальшого аналізу. Використання поверхнево-активної речовини Тритон Х-100 (ω=4%) дало змогу підвищити чутливість атомно-абсорбційного визначення. Показано, що підвищення чутливості збільшується для заліза у 1.32 рази, для свинцю у 1.23 рази, а для магнію 1,55. Визначено концентрацію заліза, свинцю та магнію в фармацевтичних субстанціях атомно-абсорбційним методом.

Правильність результатів атомно-абсорбційного визначення аналітів була підтверджена методом «введено-знайдено», що засвідчило відсутність значущої систематичної похибки. Визначено межі виявлення методом атомно-абсорбційної спектрометрії: для заліза $C_{min}^{\text{зн}}$=0,010 мкг/мл ($C_{min}^{\text{тер}}$ =0,015 мкг/мл), для свинцю $C_{min}^{\text{зн}}$=0,01 мкг/мл ($C_{min}^{\text{тер}}$ =0,05 мкг/мл) та для магнію $C_{min}^{\text{зн}}$=0,011 мкг/мл ($C_{min}^{\text{тер}}$ =0,015 мкг/мл).

Ключові слова: ЗАЛІЗО, СВИНЕЦЬ, МАГНІЙ, АТОМНО-АБСОРБЦІЙНА СПЕКРОСКОПІЯ, ПРОБОПДГОТОВКА, УЛЬТРАЗВУК, ТРИТОН Х-100, МЕТРОЛОГТЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Abstract

The qualification work contains: 37 pag., 3 fig., 1 photo, 14 tab.

Purpose: to develop a method for atomic absorption determination of analytes in pharmaceutical substances with improved metrological characteristics.

Research objects: sodium chloride, ascorbic acid, talc, provided for research by the pharmaceutical company "Zdorovya".

Research methods: atomic absorption spectroscopy (C-115-MI) and ultrasonic treatment for 20 min. (PS- 20).

Results of the work and their novelty: the use of ultrasonic treatment of samples for 20 min. ensured effective extraction of analytes for further analysis. The use of the surfactant Triton X-100 (ω=4%) made it possible to increase the sensitivity of atomic absorption determination. It is shown that the increase in sensitivity increases for iron by 1.32 times, for lead by 1.23 times, and for magnesium by 1.55. The concentration of iron, lead, and magnesium in pharmaceutical substances was determined by the atomic absorption method.

The correctness of the results of the atomic absorption determination of the analytes was confirmed by the "input-found" method, which showed the absence of a significant systematic error. The detection limits were determined by atomic absorption spectrometry: for iron C_{min}^{pr}=0,010 μg/ml (C_{min}^{ter} =0,015 μg/ml), for lead C_{min}^{pr}=0,01 μg/ml (C_{min}^{ter} =0,05 μg/ml) and for magnesium C_{min}^{pr}=0,011 μg/ml (C_{min}^{ter} =0,015 μg/ml).

Keywords: IRON, LEAD, MAGNESIUM, ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY, SAMPLE PREPARATION, ULTRASOUND, TRITON X-100, METROLOGICAL CHARACTERISTICS

ЗМІСТ

ВСТУП 6

1.ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД 8

1.1. Біологічна роль заліза, магнію та свинцю для організму людини 8

1.2. Методи визначення аналітів у багатокомпонентних зразках 8

1.2.1 Атомно-абсорбційна спектрометрія (ААС) 8

1.2.2. Хромото-мас спектрометрія 8

1.2.3.Атомно-емісійна спектрометрія 9

1.2.4.Люмінесцентний аналіз 9

1.2.5 Рентгенофлюорисцентний аналіз 9

1.2.6. Мас- спектрометрія 10

1.3. Способи підвищення чутливості визначення аналітів атомно-абсорбційним методом 10

1.4. Пробопідготовка багатокомпонентних зразків 11

1.4.1. Ультразвукова пробопідготовка 11

1.4.2. Мікрохвильова пробопідготовка 11

1.4.3. Автоклавна пробопідготовка 12

1.5. Перевірка правильності результатів 12

1.6. Вплив Pb, Mg та Fe на організм людини 12

1.7. Гранично допустима концентрація 14

2.ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА 16

2.1. Реактиви, прилади та обладнення 16

2.2. Приготування градуювальних розчинів 16

2.3. Підготовка зразків 17

2.4. Вплив УЗ обробки 18

2.5.Підготовка роботи спектрометра 18

2.6.Підвищення чутливості 19
2.7 Результати атомно-абсорбційного визначення аналітів 23
визначення аналітів у фармацевтичних субстанціях
2.8. Перевірка правильності результатів атомно-абсорбційного 23
визначення заліза, свинцю та магнію методом «введено –
знайдено»
2.9 Оцінка межі виявлення аналітів атомно-абсорбційним 25
методом
2.10. Порівняння результатів з припустимою нормою 29
концентрації
2.11.Охорона праці 30
ВИСНОВКИ 33
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 34

ВСТУП

Важливим аналітичним завданням є визначення важких металів в об'єктах навколишнього середовища, продуктах харчування та фармацевтичних препаратах, на рівні їх гранично допустимих концентрацій [1–3]. Концентрація металів, які відіграють особливу роль у процесах життєдіяльності нашого організму та біосфери, у занадто великому вмісті в організмі сприяє розвитку багатьох хвороб. Важкі метали та їх сполуки можуть накопичуватися в тканинах та викликати ряд захворювань. Важкі метали та їх сполуки можуть, як позитивно впливати на організм людини, так і наносити шкоди, бо мають властивість накопичуватися в тканинах та викликати ряд захворювань [4].

Надлишковий вміст у біологічних системах заліза, мангану та свинцю може спричинити порушення функціонування органів і систем. Надлишок цих важких металів може бути як результатом метаболічних збоїв, так і наслідком впливу зовнішніх факторів [5]. Наявність надлишку металів у фармацевтичних препаратах є не просто фармакологічною помилкою, а великою загрозою для здоров’я і життя людини, особливо при тривалому застосуванні. Тому контроль їхнього вмісту відповідно до вимог ДСТУ є обов’язковим [6].

Отже, визначення вмісту важких металів у фармацевтичних субстанціях є дуже актуальним і важливим для здоров'я населення та повинно проводитися на регулярній основі.

Актуальність данної роботи є контроль вмісту важких металів у фармацевтичних субстанціях є надважливим дослідженням для забезпечення якості та безпеки лікарських препаратів.

Задачі кваліфікаційної роботи:

1) Провести літературний огляд по методах визначення аналітів в фармацевтичних субстаціях;

2) Вивчити вплив ПАР на величину аналітичного сигналу при визначенні свинцю, заліза, магнію методом ААС;

3) Досягти повноти вилучення аналіту шляхом використання ультразвукової обробки багатокомпонентних зразків;

4) Методом ААС визначити вміст аналітів в фармацевтичних субстанціях, наданих на дослідження фірмою «Здоров'я»;

5) Перевірити правельність результатів атомно-абсорбційного визначення аналітів методом «введено-знайдено»;

6) Оцінити межу виявлення аналітів (Cmin) антомно-абсорбційним методом.

1.ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1. Біологічна роль заліза, магнію та свинцю для організму людини

Передозування металів у лікарських препаратах або харчових продуктах може мати серйозні токсикологічні та клінічні наслідки. Особливо небезпечне систематичне надходження навіть малих доз, оскільки деякі елементи накопичуються в організмі [7-9].

1.2. Методи визначення аналітів у багатокомпонентних зразках

1.2.1 Атомно-абсорбційна спектрометрія (ААС)

Один з найбільш поширених методів аналізу матеріалів. Цей метод базується на взаємодії електромагнітного випромінення з атомами, які знаходяться в газовому, рідкому або твердому стані. Основний принцип атомно-абсорбційної спектрометрії - це вимірювання поглинання світла атомами або іонами речовини в пробі. Це можливо через атомізацію проби, через подачу проби в атомний пальник, саме там починається перехід атомів на вищий енергетичний рівень. Далі в процесі аналізу вимірюється поглинання світла від атомів аналіту в спектральному діапазоні. Саме цей діапазон відповідає переходу енергії [10-12].

1.2.2. Хромото-мас спектрометрія

Хромато-мас-спектрометрія (ХМС) – аналітичний метод аналізу, який в собі поєднує два види аналізу, а саме хроматографію та мас-спектрометрію. За допомогою цього методу можливо визначити концентрацію в найменших кількостях. Також цей метод дозволяє розділяти та ідентифікувати складні речовини та їх вміст. Принципом цього методу є те, що спершу зразок за допомогою хроматографії розділяється на компоненти і далі всі компоненти

дослідження іонізуються на газоподібні іони в мас-спектрометрі. За допомогою мас-спектрометра зчитується маса та заряд іона і в кінцевому результаті генерується мас-спектр (за допомогою мас-спектру визначають кількість іонів та їх масу) [13].

ХМС дуже важливий метод аналізу в аналітичній хімії, бо саме через нього з високою точністю можна проаналізувати зразки.

1.2.3.Атомно-емісійна спектрометрія

Аналітичний метод аналізу, який базується на вимірюванні спектрів емісійних ліній атомів. За допомогою цього методу можна визначити кількість різних елементів в речовині. Принцип цього методу полягає в тому, що атоми випромінюють енергію у вигляді світла , щоб атоми випромінювали світло речовина піддається ексайтації. Далі спектрометром проводиться аналіз світла і занотовується електронним детектором. За допомогою спектра є можливість визначити, які саме елементи в речовині та кількість цих елементів. [14]

АЕС є важливим методом аналізу, за його допомогою можна визначити кількість елементів в речовині з високою точністю.

1.2.4.Люмінесцентний аналіз

Метод аналізу в аналітичній хімії, в якому застосовується випромінення світла. В процесі досліду речовини, які поглинають енергію від джерела світла та після цього випромінюють світло з відповідною довжиною хвилі. Таким методом можна дослідити та визначити білки, нуклеїнові кислоти, лікарські засоби і тд. В процесі аналізу зразок піддають освітленню світлом з певною довжиною хвилі, світло взаємодіє з зразком та таким чином збуджує зразок до емісії. Далі це випромінення вимірюють та аналізують, для визначення концентрації речовини в пробі, а також її кількість [15].

1.2.5 Рентгенофлюорисцентний аналіз

Аналітичний метод аналізу (РФА) використовується для визначення елементного складу речовин/матеріалів (скло, тканини, метали, кераміка). Цей метод включає в собі флуоресцентний аналіз та рентгенівську спектроскопію. В цьому методі аналізу проба піддається впливу рентгенівського випромінення і це призводить до випромінення світла. В процесі аналізу зразок абсорбує рентгенівське випромінення та випромінюють відповідний для них сигнал. За допомогою фотодетектора аналізують сигнал (можливе використання спектрометра для визначення, які елементи присутні в речовині та їх концентрацію) [16].

1.2.6. Мас- спектрометрія

Метод аналізу в аналітичній хімії, який дозволяє визначати масу та концентрацію окремих молекул в пробі. В цьому методі аналізу проба змішується з електронним пучком, цей електронний пучок розщеплює молекули на іони. Далі іони, що утворились проходять через магнітне та електричне поля, за допомогою цього іони відокремлюються за масою та зарядом. Розділенні іони збираються, аналізуються, реєструються в детекторі [17].

За допомогою мас-спектрометрії можна визначити масу, структуру, кількість молекул в пробі. Цей метод аналізу використовується для визначення великої кількості зразків (білки, полімери, метали, органічні сполуки і тд)

1.3. Способи підвищення чутливості визначення аналітів атомно-абсорбційним методом

Підвищення чутливості атомно-абсорбційного методу за допомогою поверхнево-активних речовин (ПАР) зумовлено здатністю ПАР змінювати фізико-хімічні властивості аналізованих розчинів. Зокрема, застосування ПАР Тритон Х-100 сприяє покращенню стабільності аналітичного сигналу, зменшенню поверхневого натягу та покращенню дисперсії аналітів. Це

дозволяє зменшити втрати елементів на етапі атомізації, покращити транспорт аерозолю в полум’я та, як наслідок, підвищити чутливість і точність вимірювань. Використання Тритону Х-100 (ω=4%) дозволило досягти стабільного сигналу та суттєво покращити прецизійність аналізу [18,19].

1.4. Правила пробопідготовки

Сучасні методи аналітичного контролю вимагають високої точності, чутливості й відтворюваності, що безпосередньо залежить від правильної пробопідготовки. У разі визначення вмісту металів у фармацевтичних субстанціях використовують мокре мінералізування, ультразвукову деструкцію, мікрохвильову кислотну обробку, або спрощену екстракцію з використанням поверхнево-активних речовин (ПАР) [20].

1.4.1. Ультразвукова пробопідготовка

Ультразвукова обробка є ефективним методом пробопідготовки, що забезпечує покращене вилучення аналітів. Під дією ультразвукових хвиль руйнуються матриці зразка і саме це прискорює розчинення компонентів, а також рівномірному розподілу аналітів у розчині. У контексті фармацевтичних субстанцій ультразвук дозволяє скоротити тривалість розчинення складних багатокомпонентних сумішей. Застосування ультразвукової обробки (наприклад, протягом 20 хвилин) дало змогу досягти повного вилучення заліза, магнію та свинцю, що підтверджено стабільністю аналітичних сигналів при атомно-абсорбційному визначенні [21-23].

1.4.2. Мікрохвильова пробопідготовка

Мікрохвильова пробопідготовка — це сучасний метод підготовки зразків до аналізу, який базується на використанні мікрохвильового випромінювання для прискорення процесів розкладання або розчинення речовин у кислотному середовищі.

Суть методу: мікрохвильова енергія викликає нагрівання розчинників і зразків, що дозволяє досягти високих температур і тиску. Це значно пришвидшує реакцію [24].

1.4.3. Автоклавна пробопідготовка

Автоклавна пробопідготовка — це метод підготовки зразків до хімічного аналізу шляхом розкладання чи розчинення речовини при підвищеній температурі та тиску, як правило, в присутності кислот. [25]

Переваги: підходить для надтвердих та складнорозчинних речовин та мінімізується втрата летких компонентів (завдяки герметичності).

1.5. Перевірка правильності результатів

У аналітичній хімії метод «введено-знайдено» використовується для швидкого аналітичного чи хімічного аналізу , який проводиться з мінімальною підготовкою проби. Цей метод використовується для виявлення речовини в пробі та концентрацію цієї речовини. Цей метод корисний, коли є потреба швидко визначити наявність речовини , але не точну її концентрацію.

Метод базується на додаванні відомої кількості стандартного розчину (спайку) до зразка з невідомою концентрацією аналіту. Після обробки та вимірювання результат порівнюється з очікуваним [26-28].

1.6. Вплив Pb, Mg та Fe на організм людини

Свинець (Pb) не несе жодної корисної функції в організмі. Є токсичним металом, навіть у низьких концентраціях. Є канцерогеном 2-го класу [29].

Негативний вплив:

- Нервова система: порушення пам’яті, уваги, інтелекту, особливо у дітей.
- Серцево-судинна система: підвищення артеріального тиску.

- Скелет: акумулюється у кістках, витісняючи кальцій.
- Кровотворення: викликає анемію.
- Нирки: хронічна нефропатія.
- Репродуктивна система: зниження фертильності.

Залізо (Fe) є компонентом гемоглобіну, міоглобіну, ферментів (каталаза, цитохроми). Забезпечує транспортування кисню, дихання клітин, також підтримує імунітет, когнітивні функції, енергетичний метаболізм [30].

Негативний вплив:

При вживанні у великих кількостях може викликати:

1. Пошкодження печінки, підшлункової залози, серця (цироз, діабет).
2. Окислювальний стрес, що ушкоджує клітини.
3. Нудоту, блювання, біль у животі, метаболічний ацидоз (гостре отруєння).

Магній (Mg) регулює м’язові скорочення, нервову провідність, ритм серця. Впливає на щільність кісток, стан психіки, метаболізм глюкози. При надлишковому вживанні викликає ниркову недостатність [31].

Висновок:

Залізо, магній та свинець є хімічними елементами, що мають різний біологічний вплив на організм людини. Залізо та магній — це незамінні елементи, що відіграють ключову роль у багатьох фізіологічних процесах, тоді як свинець є токсичним металом, що не має жодної корисної функції в організмі.

Таким чином, контроль вмісту заліза, магнію та особливо свинцю у фармацевтичних субстанціях є надзвичайно важливим як для забезпечення якості лікарських засобів, так і для захисту здоров’я пацієнтів. Порушення

допустимих рівнів цих металів може призводити до гострих та хронічних отруєнь, порушення функціонування органів та систем, а в окремих випадках — до незворотних наслідків.

Таблиця 1.1-Рекомендована норма на день.

	Fe, мг на добу	Mg, мг на добу	Pb, мкг на добу
Чоловік	8	420	1,5
Жінка	18	320	1,5
Діти	7-10	80-240	3,6

Появи важких металів в формацевтичних субстанціях можлива через неочищені природні компоненти (особливо мінерального чи рослинного походження) можуть містити сліди Pb, Cd, As, Fe тощо, через неякісні хімічні реагенти (особливо технічного або технохімічного класу) можуть мати вміст важких металів як домішки, а також обладнання та інструменти (металеві частини реакторів, мішалок або контейнери можуть і забруднювати субстанцію залізом, нікелем або хромом) [32-35].

1.7. Гранично допустима концентрація

В Україні ГДК заліза у хлориді натрію складає 10-20 мг/кг, свинцю 1 мг/кг. Гранично допустима концентрація для заліза у аскорбінові й кислоті складає 10 мг/кг, для свинцю – 0,5-1,0 мг/кг. ГДК важких металів у тальку складає для заліза 9000 мг/кг, для свинцю – 10 мг/кг, а також для магнію – 170000-195000 мг/кг.

Магній не має встановленої уніфікованої ГДК у фармацевтичних субстанціях, оскільки зазвичай не несе токсичного ризику в мікрокількостях [36, 37].

Його визначення проводиться лише:

- при відповідних фармакопейних вимогах;
- у чутливих лікарських формах;
- або якщо передбачено специфікацією на сировину.

Важливо розуміти, що ГДК змінюється з часом і це залежить від законодавчих, а також регуляторних вимог, тому що при виробництві фармацевтичних препаратів на підприємствах використовуються домішки та ці домішки впливають на вміст важких металів.

2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

2.1. Реактиви, прилади та обладнення

Реактиви:

- Фармацевтична субстанція натрій хлориду;

- Фармацевтична субстанція аскорбінової кислоти;

- Фармацевтична субстанція тальку;

- Нітратна кислота (1,5%)

- Тритон Х-100 (3%)

- Розчини заліза, свинцю та магнію 1 г/л (стандартний зразок іонів Заліза, Свинцю та Магнію приготовлений у фізико-хімічному інституті ім. О.В. Богатського НАН України, м. Одеса)

- Дистильована вода

Прилади:

-Атомно-абсорбційний спектрофотометр С-115-М1;

-Аналітичні ваги АДВ-200-М

-Ультразвукова баня PS-20.

Обладнення:

-Лампи з порожнистим катодом на залізо, свинець та магній;

-Повітряний компресор;

-Мірні колби місткістю 50, 10 та 5 мл;

-Піпетки місткістю 2 та 5 мл;

-Стакани хімічні місткістю 50 мл;

-Конічна колба;

2.2. Приготування градуювальних розчинів

Першою серією градуювальних розчинів є водні розчини стандартних зразків заліза, свинцю та магнію з концентрацією 1,0 г/л. Для приготування градуювальних розчинів з заданими концентраціями потрібно приготувати проміжний розчин, а для виконання цього потрібно піпеткою на 5 мл відібрати 2,5 мл вихідного розчину та перенести у колбу на 50 мл, далі довести до мітки дистильованою водою. В колбу на 10 мл вносять аліквоти проміжного розчину по 0,2; 0,6; 1,0; 1,4; 2,0 мл і доводять до мітки дистильованою водою.

Таким чином отримали розчини заліза, свинцю та магнію з концентраціями $1*10^{-4}$;$3*10^{-4}$; $5*10^{-4}$; $7*10^{-4}$; $10*10^{-4}$ г/л.

Для приготування другої серії градуювальних розчинів з використанням поверхнево активної речовини відбирають піпеткою аліквоти 0,2; 0,6; 1,0; 1,4; 2,0 мл проміжного розчину та додають 2 мл Тритон Х-100 (w=4%)

2.3. Пробопідготовка зразків

Основну похибку в результат аналізу часто вносить стадія пробопідготовки, яка є дуже важливою в процесі атомно абсорбційного аналізу. Особливо це відноситься до твердих зразків зі складною матрицею, які необхідно перевести в розчин.

На аналітичних вагах зважуємо наважки наших зразків для проби. Для наважок солі зважуємо фармацевтичні субстанції 0,5г

Навжки обраних мною продуктів складали:

Таблиця 2.1-Маси наважок фармацевтичних субстанцій, взятих для аналізу

№ наважки	Маса наважки, г
NaCl	0,5038
Аскорбінова кислота	0,5030
Тальк	0,5030

Аналізовані проби переносимо в термостійкий стакан. До наважок доливаємо по 5 мл конц. HNO_3, вміст перемішуємо.

Склянки ставимо на газову плиту. Упарюємо до вологого залишку та охолоджуємо до кімнатної температури. Доливаємо по 10 мл розчину HNO_3 (ω=1,5%) перемішуємо до однорідної маси. Далі обробляємо ультразвуком 20 хвилин. Після цього розчин фільтруємо.

У мірну колбу місткістю 25 мл вносимо 2 мл (ω=4%) розчину поверхнево-активної речовини Тритон Х-100. У вузькій частині колби розміщуємо скляну воронку з паперовим фільтром і відфільтровуємо вміст склянки, промиваючи нерозчинний залишок на фільтрі розчином HNO_3 (ω=1,5%).

Промивні води збираємо відразу в колбу і доводимо до мітки розчином HNO_3 (ω=1,5%) і ретельно перемішуємо.

2.4. Вплив УЗ обробки на повноту вилучення аналітів з аналізованих зразків

УЗ обробка використовується для руйнування ущілень та коагуляції, а також для пришвидшення хімічної реакції. В роботі використано ультразвукову баню PS-20.

Ультразвукова баня заповнюється водою, далі в баню поміщають проби та вмикають пристрій. Залишають на 20 хв.

Рисунок 2.1.- Ультразвукова баня PS-20

2.5. Підготовка роботи спектрометра

Підготовка приладу до роботи, його включення і виведення на робочий режим здійснюють по прикладеним до спектрофотометра технічним інструкціям.

а) Прогрівання джерела резонансного випромінювання перед початком вимірювань до отримання стабільної інтенсивності випромінювання , але не менше 0,5 год;

б) Прогрівання включеного пальника перед початком випромінювань і одночасно з його промиванням дистильованою водою протягом 5-10 хв ;

в) Точне налаштування монохроматора на резонансну лінію по максимуму випромінювання при мінімальній щілині, але проведення вимірювань при максимальній щілині монохроматора;

г) Налаштування висоти пальника та співвідношення повітря ацетилен перед кожною серією вимірювань по максимуму абсорбції одного із стандартних розчинів порівняння.

Встановлюють параметри при вимірюванні на атомно-абсорбційному С-115-М1:

а) для Заліза: λ=248,3 нм; I= 7,5 мА; ФЕП=1,5 кВ, ширина щілини монохроматора= 0.1 нм.

б) для Свинцю: λ=283,2; I=7,5 мА; ФЕП=1,2 кВ; масштаб 2:1, ширина щілини монохроматора= 0.1 нм.

в) для Магнію: λ=285,2 нм; I= 7,5 мА; ФЕП=1,0 кВ ширина щілини монохроматора= 0.1 нм.

2.6. Дослідження підвищення чутливості визначення аналітів з використанням Тритон Х-100

Чутливість атомно-абсорбційного визначення аналіту визначається нахилом лінійної частини градуювального графіка:

$$s = tg\,\alpha = \frac{dA}{dC} \tag{2.1}$$

Знаходять відношення в скільки разів, $\frac{tg\alpha 1}{tg\alpha_2}$, яке характеризує в скільки разів підвищується чутливість визначення аналіту з добавкою ПАР

$$\frac{tg\alpha 1}{tg\alpha 2} = \Delta S \tag{2.2}$$

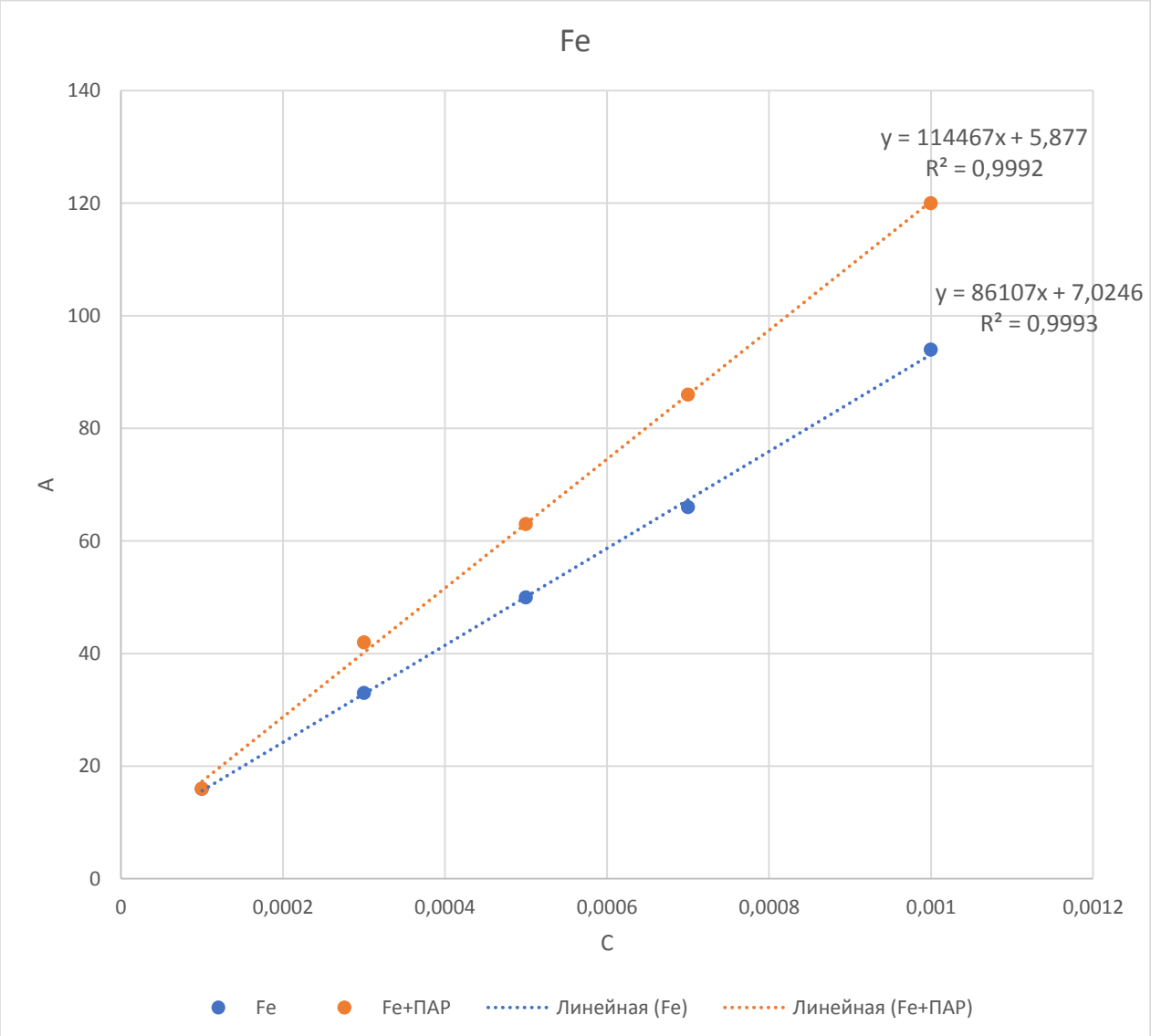

Рисунок 2.2- Залежність аналітичного сигналу заліза від його концентрації при атомно-абсорбційному визначенні з використанням водних розчинів стандартних зразків складу заліза та цієї ж сполуки з додаванням 4% ПАР Тритон Х-100.

$$\Delta S = \frac{tg\alpha 1}{tg\alpha 2} = 1{,}32 \ \ (32\%)$$

Таким чином, чутливість атомно-абсорбційного визначення для заліза збільшилась в 1,32 рази або на 32 %.

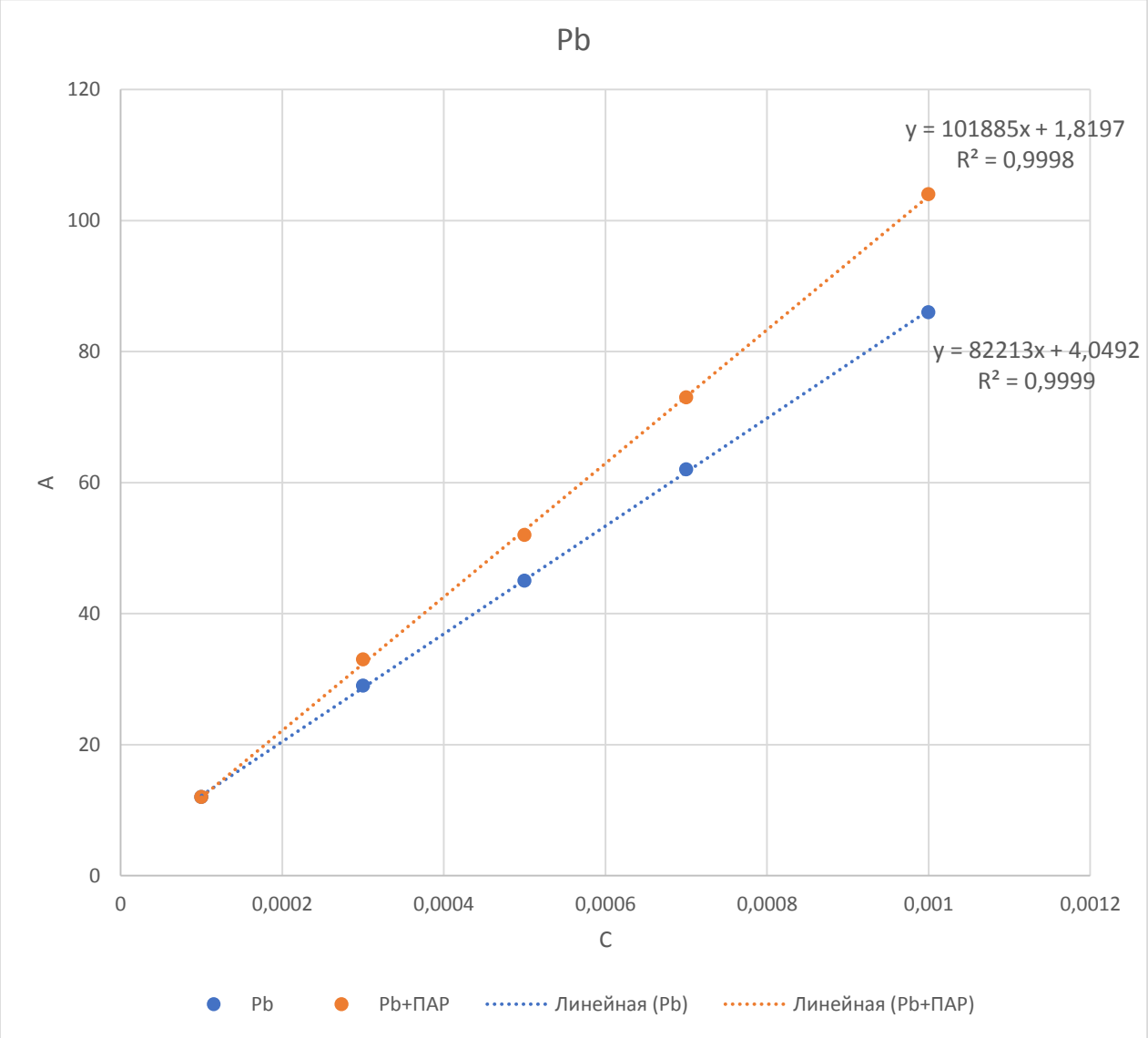

Рисунок 2.3- Залежність аналітичного сигналу свинцю від його концентрації при атомно-абсорбційному визначенні з використанням водних розчинів стандартних зразків складу свинцю та цієї ж сполуки з додаванням 4% ПАР Тритон Х-100.

$$\Delta S = \frac{tg\alpha 1}{tg\alpha 2} = 1{,}23 \ (23\%)$$

Таким чином, чутливість атомно-абсорбційного визначення для свинцю збільшилась в 1,23 рази або на 23 %.

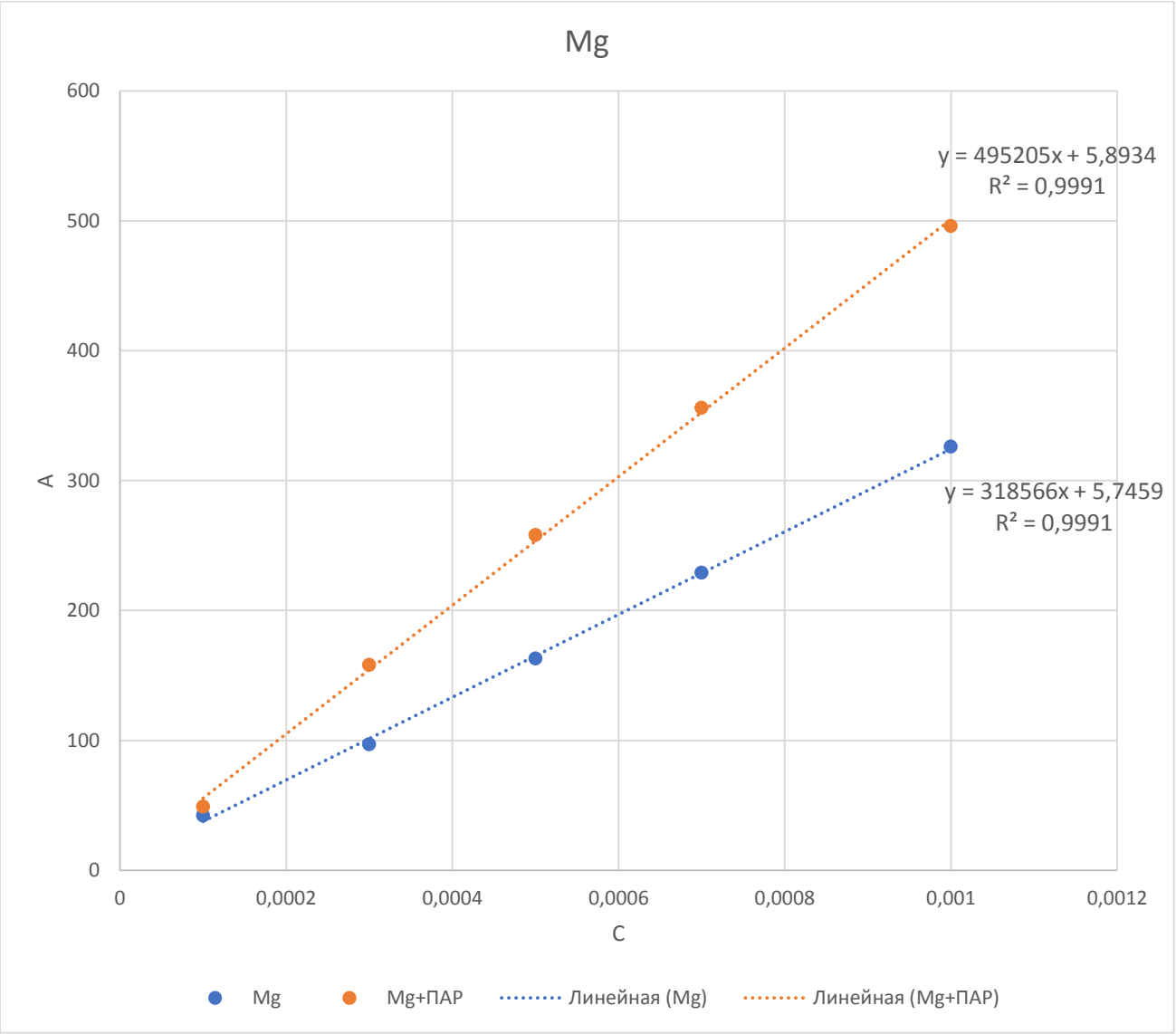

Рисунок 2.4- Залежність аналітичного сигналу магнію від його концентрації при атомно-абсорбційному визначенні з використанням водних розчинів стандартних зразків складу магнію та цієї ж сполуки з додаванням 4% ПАР Тритон Х-100.

$$\Delta S = \frac{tg\alpha 1}{tg\alpha 2} = 1{,}55\ (55\%)$$

Таким чином, чутливість атомно-абсорбційного визначення для свинцю збільшилась в 1,55 рази або на 55 %.

2.7 Результати атомно-абсорбційного визначення аналітів визначення аналітів у фармацевтичних субстанціях

Таблиця 2.2. Визначення вмісту заліза у фармацевтичних субстанціях атомно-абсорбційним методом (n=5, P=0.95).

№ проби	C(Fe), г/л	C(Fe), мг/кг
NaCl	0,00024	11,91
Аскорбінова к-та	0,00060	29,82
Тальк	0,00064	31,81

Таблиця 2.3. Визначення вмісту свинцю у фармацевтичних субстанціях атомно-абсорбційним методом (n=5, P=0.95).

№ проби	C(Pb), г/л	C(Pb), мг/кг
NaCl	0,00010	4,97
Аскорбінова к-та	0,00012	5,96
Тальк	-	-

Таблиця 2.4. Визначення вмісту магнію у фармацевтичних субстанціях атомно-абсорбційним методом (n=5, P=0.95).

№ проби	C(Mg), г/л	C(Mg), мг/кг
NaCl	0,00024	11,91
Аскорбінова к-та	0,00075	37,28
Тальк	0,0017	84,49

2.8. Перевірка правильності результатів атомно-абсорбційного визначення заліза, свинцю та магнію методом «введено – знайдено»

Для перевірки правильності результатів аналізу методом «введено-знайдено» необхідно побудувати градуювальний графік, потім приготувати

пробу з добавкою одного розчину із серії градуювальних розчинів, і за показниками приладу знайти концентрацію даного розчину (проба + градуювальних розчин). Практичне значення концентрації порівняти з теоретичним.

Таблиця 2.5. Перевірка правильності результатів атомно-абсорбційного визначення заліза у фармацевтичних субстанціях методом стандартних добавок (n=5,P=0.95).

Проба	Вміст Fe, мг/кг	Введено Fe, мг/кг	Знайдено Fe, мг/кг	Sr
NaCl	11,91 ±0,06	12	24,32 ±1,1	0,02
Аскорбінова к-та	29,80 ±0,7	30	60,54 ±1,4	0,01
Тальк	31,83 ±0,2	32	64,12 ±0,4	0,01

Таблиця 2.6. Перевірка правильності результатів атомно-абсорбційного визначення свинцю у фармацевтичних субстанціях методом стандартних добавок (n=5,P=0.95).

Проба	Вміст Pb, мг/кг	Введено Pb, мг/кг	Знайдено Pb, мг/кг	Sr
NaCl	4,93 ±1,6	5	10,22 ±2,1	0,01
Аскорбінова к-та	5,91 ±0,7	6	12,54 ±1,2	0,02
Тальк	-	-	-	-

Таблиця 2.7. Перевірка правильності результатів атомно-абсорбційного визначення магнію у фармацевтичних субстанціях методом стандартних добавок (n=5,P=0.95).

Проба	Вміст Mg, мг/кг	Введено Mg, мг/кг	Знайдено Mg, мг/кг	Sr
NaCl	11,92 ±0,3	11	23,23 ±0,7	0,01
Аскорбінова к-та	38,35 ±0,2	38	76,51 ±0,5	0,03
Тальк	8,51 ±0,12	8	17,15 ±0,22	0,02

2.9 Оцінка межі виявлення аналітів атомно-абсорбційним методом

Оцінка межі виявлення проводилися шляхом вимірювання 20 холостих розчинів для кожного елемента.

Потім розраховували значення стандартного відхилення фону:

$$S_0 = \sqrt{\frac{\sum\left(\bar{A} - A_i\right)^2}{n-1}} \qquad (2.3)$$

Далі розраховуємо межу виявлення,

$$C_{min} = \frac{3S_0}{S} \qquad (2.4)$$

де S- коефіцієнт чутливості, який дорівнює tgα

Таблиця 2.8 Оцінка межі виявлення C_{min} (мкг/мл) заліза при атомно-абсорбційному визначенні.

№	A_0	A_1	A_2	A_3	A_4	A_5	A_6	A_c	S_0	$C_{min(теор)}$=0,015
1	2	5	4	4	3	3	4	3,31	0,69	
2	3	4	3	3	4	5	4		$C_{min=}$0,010	
3	3	4	3	3	4	2	5			
4	5	3	4	2	6	5	4			
5	4	3	4	5	6	3	5			
6	1	5	2	6	2	4	3			
7	5	2	3	1	2	5	1			
8	2	3	4	5	2	1	3			
9	3	1	2	4	4	6	2			
10	2	2	5	6	3	1	6			
11	4	2	2	1	3	4	3			
12	1	3	4	3	4	2	2			
13	3	0	5	2	2	3	5			
14	0	2	2	4	6	5	4			
15	2	0	5	3	1	2	1			
16	5	2	3	5	2	1	2			
17	1	3	5	1	3	3	4			
18	4	1	2	3	4	2	3			
19	3	4	3	2	1	0	2			
20	2	3	2	0	5	4	5			

Таблиця 2.9. Оцінка межі виявлення C_{min} (мкг/мл) свинцю при атомно-абсорбційному визначенні.

№	A_0	A_1	A_2	A_3	A_4	A_5	A_6	A_c	S_0	$C_{min(теор)}$=0,05

1	7	10	7	10	11	12	10	1,42	0,69	
2	4	9	4	3	9	3	5		C_{min}=0,01	
3	10	9	6	10	9	13	12			
4	10	8	6	9	8	11	10			
5	5	6	4	4	6	7	6			
6	8	9	8	7	5	9	6			
7	10	9	11	9	11	13	12			
8	6	7	6	8	7	9	7			
9	6	7	6	7	5	8	6			
10	6	8	6	5	4	8	5			
11	4	6	5	8	7	9	6			
12	7	9	10	8	10	8	9			
13	8	8	4	5	8	10	9			
14	5	10	9	8	6	7	8			
15	6	9	7	6	3	5	3			
16	9	10	8	5	10	9	8			
17	5	6	5	7	5	9	8			
18	10	8	11	9	6	5	7			
19	8	6	8	9	8	9	5			
20	11	7	6	5	8	9	7			

Таблиця 2.10. Оцінка межі виявлення C_{min} (мкг/мл) магнію при атомно-абсорбційному визначенні.

№	A_0	A_1	A_2	A_3	A_4	A_5	A_6	A_c	S_0	$C_{min(теор)}$=0,00007

1	54	51	52	53	51	50	51	61.13	3,01	
2	52	55	58	58	59	58	55		C_{min} = 0,000065	
3	59	62	59	58	57	56	59			
4	51	53	52	54	53	56	54			
5	52	51	53	52	51	52	53			
6	51	52	51	54	53	54	52			
7	71	78	72	76	72	75	76			
8	66	69	64	66	64	68	66			
9	69	68	66	65	65	66	68			
10	47	44	47	44	46	44	45			
11	48	47	48	50	48	48	48			
12	63	62	61	65	61	62	63			
13	50	48	54	64	62	64	61			
14	81	87	85	85	88	86	86			
15	117	109	106	108	109	118	106			
16	59	56	55	54	53	56	55			
17	50	51	54	56	54	50	53			
18	60	58	55	57	58	59	57			
19	58	57	54	55	51	50	54			
20	55	57	62	61	61	62	60			

Оцінено межу виявлення заліза, свинцю та магнію, яка становить 0.010 мкг/мл, 0.001 мкг/мл та 0,000065, порівнюючи межу виявлення (практичну) з теоретичними значеннями можемо сказати, що значення межі виявлення важких металів практичні нижчі від літературних.

2.10. Порівняння результатів з припустимою нормою концентрації

Таблиця 2.11. Порівняння результатів з припустимою нормою концентрації заліза.

№ проби	Норма Fe, мг/кг	Вміст Fe, мг/кг
NaCl	20,00	11,91
Аскорбінова к-та	10,00	29,82
Тальк	9000,0	31,81

Таблиця 2.12. Порівняння результатів з припустимою нормою концентрації свинцю.

№ проби	Норма Fe, мг/кг	Вміст Fe, мг/кг
NaCl	1,00	4,97
Аскорбінова к-та	1,00	5,96
Тальк	10,00	-

Таблиця 2.13. Порівняння результатів з припустимою нормою концентрації магнію.

№ проби	Норма Fe, мг/кг	Вміст Fe, мг/кг
NaCl	150,0	11,91
Аскорбінова к-та	50	37,28
Тальк	195000,0	84,49

Усі три субстанції відповідають нормам за вмістом магнію. За вмістом заліза перевищення зафіксовано лише в аскорбіновій кислоті. Найбільше перевищення виявлено щодо свинцю в субстанціях NaCl і аскорбіновій кислоті, що є небезпечним і потребує перегляду якості сировини або технології очищення.

2.11. Охорона праці

Заходи безпеки про підготовці до використання та експлуатації спектрометра. Приміщення, в якому встановлюються спектрометр, повинно мати площу не менше ніж 10 м, обсяг не менше 30 м і витяжну вентиляцію. Над пальником повинен бути встановлений витяжний парасоль з витяжною вентиляцією з регульованою витратою повітря. При атомно-абсорбційному визначенні використовуються газовий балон, якому знаходиться суміш газів «пропан-бутан». Основні правила зберігання та користування балоном:

1) Балони з газами можуть зберігатись як у спеціальних приміщениях, такі на відкритому повітрі, в останньому випадку вони повинні бути захищені від атмосферних опадів і сонячних променів.

2) Наповнені балони з насадженими на них башмаками мають зберігатися у вертикальному положенні. Для запобігання падіння балони треба встановлювати в спеціально обладнані гнізда, клітки або огороджувати бар'єром.

3) Забороняється зберігати горючі матеріали та проводити роботи з відкритим вогнем навколо складу з балонами на відстані менше 10 м.

4) Перевірка стану балонів, що зберігаються, повинна проводитись щоденно.

5)При виявленні пошкоджень балонів або виділені з них газів необхідно: балони з негорючими газами віддалити в сторону та покласти на землю; балони з горючими газами віддалити на відстань не менше 100 м від житлових та виробничих будівель, ретельно усунувши при цьому можливість спалаху газів від іскри або інших джерел вогню, а потім установити спостереження за виходом з балонів газів до повного припинення шипіння або відсутності запаху

6) Особи, які допущені до знешкоджування балонів з горючими та отруйними газами, повинні бути забезпечені спецодягом і фільтруючим протигазом марки

Послідовність надання першої допомоги:

а) припинити дію на організм факторів, що спричинили нещасний випадок, які загрожують здоров'ю чи життю потерпілого (звільнити від дії електричного струму, винести з зараженої зони, загасити одяг, що спалахнув, витягти з води) оцінити його стан;

б) визначити характер і важкість травми, найбільшу загрозу для життя потерпілого, послідовність заходів по його рятуванню;

в) вжити необхідних заходів рятуванню потерпілого в порядку по першочерговості (відновити проходимість дихальних шляхів, провести штучне дихання, зовнішній масаж серця, зупинити кровотечу, накласти пов'язку тощо);

г) викликати швидку допомогу чи лікаря або вжити заходів для відправки потерпілого в найближчий медичний заклад:

д) підтримувати основні життєві функції потерпілого до прибуття медичної допомоги.

Небезпеку під час проведення експериментальних операцій серед реактивів становлять кислоти та луги. Загальні правила роботи з кислотами:

а) концентровані кислоти зберігають під тягою. Переливають їх також під тягою, користуючись індивідуальними засобами;

б) при користуванні склянкою з кислотою необхідно стежити, щоб на кожній склянці була назва кислоти. Наливати кислоту треба так, щоб при нахилі склянки етикетка не була зіпсована;

в) у разі розливання кислоти її необхідно прибрати. Кращий спосіб збирання - засипати калюжу сухим кварцовим піском. Після прибирання піску місце розливу обробляють 10-15% розчином соди, а потім миють водою. Тільки в крайніх випадках можна скористатися ганчірками для прибирання, тому деякі кислоти (хлорна, нітратна) активно взаємодіють з

органічними речовинами, і в процесі реакції виділяється така кількість теплоти, що можливе займання.

Перша допомога при ураженні кислотою. Уражену ділянку шкіри промивають під струменем холодної води протягом 10-15 хв. Після цього на обпечене місце накладають марлеву пов'язку 2% -м розчином питної соди. Окрім реактивів, при виконанні експериментальної частини, треба звернути увагу на лабораторне обладнання: роботу з лабораторним склом та обладнанням. Головним небезпечним фактором при роботі з хімічним посудом є неправильне нагрівання, при якому скло може тріснути.

ВИСНОВКИ

1) Проведено літературний огляд по методах визначення аналітів в фармацевтичних субстаціях. Метод атомно-абсорбційної спектрометрії один із найбільш поширених і широко використовується для визначення вмісту важких металів у різноманітних об'єктах дослідження, зокрема у фармацевтичних субстанціях.

2) Дослідили вплив ПАР на величину аналітичного сигналу при визначенні свинцю, заліза, магнію методом ААС. В ході дослідження досягнуто підвищення чутливості атомно-абсорбційного визначення аналітів шляхом застосування Тритону Х-100 (ω= 4%). Встановлено, що завдяки такому дослідженні чутливість зросла у 1,32 (32%) рази для заліза, у 1,23 (23%) рази для свинцю та для магнію у 1,55 (55%).

3) Досягли повноти вилучення аналіту шляхом використання ультразвукової обробки багатокомпонентних зразків.

4) Методом ААС визначили вміст аналітів в фармацевтичних субстанціях, наданих на дослідження фірмою «Здоров'я».

5) Перевірили правельність результатів атомно-абсорбційного визначення аналітів методом «введено-знайдено».

6) Оцінили межу виявлення аналітів (Cmin) антомно-абсорбційним методом. Для заліза $C_{min}^{\text{зн}}$=0,010 мкг/мл ($C_{min}^{\text{тер}}$ =0,015 мкг/мл), для свинцю $C_{min}^{\text{зн}}$=0,01 мкг/мл ($C_{min}^{\text{тер}}$ =0,05 мкг/мл) та для магнію $C_{min}^{\text{зн}}$=0,011 мкг/мл ($C_{min}^{\text{тер}}$ =0,015 мкг/мл).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Юрченко О.І. Сучасні методи атомно-абсорбційного аналізу у фармацевтичній хімії. Харків: ХНУ ім. В.Н. Каразіна, **2021**:116-119.

2. Tchounwou PB et al. Heavy metals toxicity and the environment. EXS. **2017**; 101:133–164.

3. Wang J., Liu Y. Elemental impurities in pharmaceuticals. Trends in Analytical Chemistry. **2020**;130:115982.

4. Рощупкін А. А. Вплив важких металів на живі організми // Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини: збірник тез доповідей V Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених. **2017**: 140–141.

5. Jaishankar Metal. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. Interdisciplinary Toxicology. **2017**;10(2):60–72.

6. ДСТУ **СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020** *Лікарські засоби. Належна виробнича практика* 1125:2014. Контроль якості фармацевтичних речовин. Мінекономрозвитку України. 9–17.

7. Шаповал Н.М., Топчій А.М. «Важкі метали як фактор ризику здоров'я населення». // Екологічна безпека та природокористування. – **2021**. – № 1 (35): 18–23.

8. Kumar S., et al. Iron metabolism and toxicity: A double-edged sword. // Biometals. **2020**;33(4):401–417.

9. Volpe S.L.Magnesium in disease prevention and overall health. // Nutrition in Clinical Practice. **2015**;30(5):635–645.

10. Семенишин Д. І., Ларук М. М. Аналітична хімія та інструментальні методи аналізу. — Львів: Видавництво Львівської політехніки, **2015**. — 148 с.

11. Chaturvedi R.K., Shukla R. Analytical methods for elemental impurity analysis in drugs. Crit Rev Anal Chem. **2022**;52(1):45–58

12. Kumar R., Prakash A. Application of AAS in trace metal analysis in pharmaceuticals. // Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. – **2019**; 58(2): 150–156

13. Приходько Р. В., Родіонов В. М., Клімко Ю. Є. Хроматографічний аналіз органічних сполук. — Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, **2023**. — 181 с.

14. Anderson K.A. Environmental applications of ICP-OES. // Environmental Chemistry Letters. – **2017**; 15(4):721–734

15. Кравченко І.П. Флуоресцентний аналіз у фармацевтичному контролі. // Вісник фармації. – **2019**: 33–38.

16. Рибалко С.Ю., Паращук О.В. Застосування рентгенофлуоресцентного аналізу в екології та фармації. // Аналітична хімія. – **2020**: 17–21.

17. Козлова А.М., Черненко Л.П. Мас-спектрометричний аналіз у медицині та фармації. // Сучасна медицина. – **2021**: 40–45.

18. Abou-Shakra F., Awadallah A. Role of Triton X-100 in AAS. J Pharm Anal. **2021**;11(4):412–420.

19. Zhou L., Chen Y. Micellar effects of Triton X-100 in sample preparation for metal analysis.// Journal of Surfactants and Detergents, **2017**; 20: 1223–1234.

20. Юрченко О. І., Черножук Т. В., Пантелеймонов А. В., Бакланов О. М. Хімічна метрологія та сучасні методи пробопідготовки : навч. посібник. — Харків: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, **2023**.- 128 с.

21. Hu Z., Chakrabarti S. Ultrasonic-assisted digestion and pre-treatment of pharmaceutical materials.// Analytica Chimica Acta, **2018**; 1022: 21–30.

22. Сергієнко Н.В., Литовченко І.В. Ультразвукова деструкція в аналітичній хімії.// Вісник хімії та біології, **2021**: 50–55.

23. Гудзь В.П., Марченко Т.Ю. Ультразвук у аналітичному контролі якості лікарських засобів.// Фармацевтичний часопис, **2019**: 33–37.

24. Matusiewicz H., Sturgeon R.E. Microwave-assisted sample digestion in trace element analysis: A review.// Analytica Chimica Acta. – **2017**: 1025: 1–23.

25. Ivanova D., Arpadjan S.Evaluation of wet and dry digestion for heavy metal analysis in pharmaceutical raw materials.// Talanta, **2017**: 174: 812–817.

26. Деркач Л.В., Саприкіна І.В. Оцінка правильності результатів методом «введено-знайдено» у визначенні мікроелементів.// Аналітична хімія. – **2021**: 18–23.

27. Gonzalez A.G., Herrador M.A. A practical guide to analytical method validation including standard addition approach.// Talanta, **2017**: 174, 110–122

28. Ткаченко О.І.Контроль точності ААС визначень методом введено-знайдено.// Хімія, фізика та технології поверхні. **2020**, 41–45.

29. Гуменюк М.І., Сєров В.В. Мікроелементи і здоров'я: вплив заліза, магнію, свинцю на організм. // Вісник екології та медицини. **2020**, 18–23.

30. Abbaspour N., Hurrell R., Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health. // Journal of Research in Medical Sciences. **2017**, 19(2): 164–174.

31. Volpe S.L. Magnesium in disease prevention and overall health. // Nutrition in Clinical Practice. **2015**; 30(5), 635–645.

32. Петренко С.С., Коваль Н.М.Джерела потрапляння токсичних елементів у лікарські препарати.// Вісник фармації. – **2020**, 35–40.

33. Бабій Л.М., Ткачук І.Ф.Метали як домішки у фармацевтичних субстанціях рослинного походження.// Аналітична хімія. – **2018**, 27–31.

34. Singh S., Bakshi M.Sources and control of elemental impurities in APIs. // Journal of Pharmaceutical Sciences, **2018**; 107(2): 659–667.

35. Rao R.N. Elemental impurities in drug substances and products: regulatory perspectives and analytical strategies.// Pharmaceutical Chemistry Journal, **2019**; 53(6): 538–548.

36. Міністерство охорони здоров’я України. Добові допустимі рівні споживання елементів (ПДВ/ПДК) для дітей та дорослих. **2022**.

37. Тимофєєва Т.І., Коваленко Л.П. Огляд регламентів допустимого вмісту важких металів у лікарських формах.// Фармацевтичний журнал. **2020**, 42–47.