

## RÖNTGENOFLORESCENČNÁ SPEKTROMETRIA AKO ALTERNATÍVNA METÓDA LIEKOPISNÝCH SKÚŠIEK NA ŤAŽKÉ KOVY

JÁNOŠOVÁ V., SÝKOROVÁ M., ŠTROFFEKOVÁ O., HAVRÁNEK E.

Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie

### SÚHRN

#### Röntgenofluorescenčná spektrometria ako alternatívna metóda liekopisných skúšiek na ťažké kovy

Liekopisné skúšky na ťažké kovy vyžadujú porovnanie zafarbenia roztoku vzorky po pridaní tioacetamidového činidla s referenčným roztokom obsahujúcim známu koncentráciu Pb. Keďže táto skúška neinformuje o druhoch ťažkých kovov ani o koncentráciách každého z nich, čoraz viac sa využívajú inštrumentálne metódy, a to nielen AAS a AES, ale aj ICP, NAA a röntgenofluorescenčná analýza. Tieto metódy umožňujú rýchlu a presnú analýzu prvkového zloženia nečistoty, takže narastá ich význam v kontrole liekov a liečivých rastlín.

**K l ú č o v é s l o v á:** ťažké kovy – limitné skúšky na ťažké kovy – AAS – ICP – röntgenofluorescenčná spektrometria

Čes. slov. Farm., 2006; 55, 213–218

### SUMMARY

#### Radionuclide X-ray Fluorescence as an Alternative Method to Pharmacopeial Tests for Heavy Metals

Pharmacopeial tests for heavy metals require comparisons between test solution's colour after addition of thioacetamide and a control solution containing a known quantity of Pb. As this test neither informs about the type of heavy metals, nor about the concentrations of each of them, there is a reason for more frequent employment of instrumental methods such as AAS and AES, as well as ICP, NAA, and X-ray fluorescence. These methods provide us with quick and exact elemental analyses of impurities, thus becoming more and more important in the quality control of drugs and medicinal plants.

**K e y w o r d s:** heavy metals – limit tests for heavy metals – AAS – ICP – X-ray fluorescence spectrometry

Čes. slov. Farm., 2006; 55, 213–218

Má

Zavádzanie nových – vysokoúčinných liekov v liečbe rôznych ochorení vyvolalo zvýšenie nárokov na ich kvalitu a bezpečnosť. Terapeutickú hodnotu má len liečivo, ktoré spĺňa okrem požiadaviek na obsah účinnej látky aj liekopisné požiadavky na čistotu.

Potreba hodnotiť liečivo po stránke čistoty vyplýva zo skutočnosti, že do liečiva sa môže dostať znečistenina v priebehu výroby, prípadne v ňom môže pretrvávajúť v dôsledku nedokonalého vyčistenia, či nesprávneho skladovania.

V liečive sú nečistoty nežiadúce, lebo môžu pôsobiť toxicky, alebo spôsobovať inkompatibility, prípadne môžu spôsobiť rozklad liečiva, a tým ovplyvniť jeho stabilitu. Takto sa môže znížiť účinnosť samotného liečiva.

Pri dlhodobom podávaní lieku a pri podávaní lieku vo vysokých dávkach môže dôjsť ku kumulácii nečistôt v organizme a k ich toxickým účinkom.

Liekopisné skúšky na čistotu majú zaručiť stupeň čistoty liečiva, ktorý ho robí bezpečným. Skúšky, ktoré liekopis predpisuje na zistenie nečistôt v liečivách, využívajú väčšinou metódy jednoduché, rýchle, ale aj dobre reprodukovateľné, ale zároveň vysoko citlivé a špecifické.

Získanie liečiva dokonalej až absolútnej čistoty je prakticky veľmi ťažké. Liekopis toleruje určité množstvá nečistôt, ktorých limit nesmie byť prekročený.

Skúšky na čistotu sa realizujú podľa liekopisu v roztokoch a môžu mať charakter:

1. kvalitatívny – liekopis nepripúšťa prítomnosť nečistôt,
2. polokvantitatívny – liekopis používa porovnávací roztok a kontrolný roztok; vyhodnotenie skúšok je kvantitatívne na základe presne známeho množstva nečistoty vyjadreného v číselných hodnotách v porovnávacom roztoku,
3. kvantitatívny – liekopis vyžaduje stanovenie obsahu nečistoty presným postupom.

Nečistoty, ktoré sa vyskytujú v liečivách, sú rôzneho charakteru – látky organické, anorganické alebo bližšie nedefinované. Podľa pôvodu sa delia na:

- nečistoty pochádzajúce zo surovín,
- nečistoty pochádzajúce z výrobného procesu (z rozpušťadiel, zo zariadení výrobného procesu, znečistenie medziproduktami pri viacstupňovej syntéze, znečistenie pri izolácii účinných látok z biologického materiálu),
- nečistoty vznikajúce počas skladovania – vznik rozkladných procesov, katalyzuje prítomnosť niektorých iónov – napr. ióny Fe, Cu v liečive a vplyv na ne majú i obaly a uzávery,
- zámerne pridávané nečistoty: ide o pomocné látky, ktoré sa pridávajú k liečivu pri jeho spracovaní do liekovej formy,
- nečistoty, ktoré sa pridávajú k liečivu na jeho znehodnotenie alebo proti falšovaniu <sup>1)</sup>.

### Skúška na ťažké kovy

Na Slovensku SL 1 vo väčšine liekopisných článkoch požaduje skúšky na ťažké kovy. Skúška „Ťažké kovy“ pozostáva zo šiestich metód. Sú to nešpecifické skúšky založené na tvorbe farebných sulfidov v slabo kyslom prostredí, ktoré majú polokvantitatívny charakter, t.j. výsledný koloidný roztok musí byť porovnávaný s referenčným roztokom olova s koncentráciou zvyčajne 10 mg.l<sup>-1</sup> <sup>2, 3)</sup>.

Tieto skúšky, ako sa uvádza v odbornej literatúre <sup>4, 5)</sup>, nie sú všeobecne aplikovateľné na zistenie všetkých potenciálnych ťažkých kovov. Skúška je vhodná pre ióny poskytujúce čierne alebo tmavohnedé sulfidy ako Pb<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Bi<sup>3+</sup>, Ag<sup>+</sup>, ale nie je bez obmedzení pri hodnotení Cd<sup>2+</sup>, Sb<sup>3+</sup>, Sb<sup>5+</sup>, As<sup>3+</sup>, As<sup>5+</sup> alebo Zn<sup>2+</sup>, ktoré sú detegovateľné len vo vysokých koncentráciách. Touto skúškou nemožno vylúčiť prítomnosť Pt, P, Fe, Ni, W, ktoré sú často používané ako katalyzátory pri výrobe liečiv.

Skúšky na ťažké kovy ich umožňujú stanoviť ako celok, ale neumožňujú ich konkrétnu identifikáciu a stanovenie. Citlivosť a selektivita týchto testov v mnohých prípadoch nie sú dostatočné pre nové požiadavky farmaceutického priemyslu a z uvedeného dôvodu sa pristupuje k stanoveniu obsahu anorganických nečistôt inštrumentálnymi metódami analytickej chémie. V odbornej literatúre sa vyskytujú požiadavky na doplnenie skúšok na ťažké kovy o identifikáciu a stanovenie obsahu jednotlivých prvkov vo vzorke metódami ICP-MS (metóda indukčne viazanej plazmy s hmotnostným spektrometrom), ICP-AES (metóda indukčne viazanej plazmy s atómovým emisným spektrometrom), AAS (atómová absorpčná spektrometria),

NAA (neutrónová aktivačná analýza), ktoré sú schopné stanoviť obsah nečistôt v nízkych koncentráciách a v zložitých matriaciach <sup>6)</sup>.

Metódu ICP-MS ako alternatívu limitných skúšok na ťažké kovy predpisovaných liekopismi USP, EP, pre lieky, liečivá a medziprodukty výroby liekov, navrhli a použili v praxi Wang et al. <sup>7)</sup> a Lewen et al. <sup>8)</sup>, pričom stanovili vo vzorke As, Se, Cd, In, Sn, Pb, Bi, Ag, Pd, Pt, Hg, Mo a Ru.

Osobitnú skupinu tvoria práce, ktoré sledujú obsah kontaminantov v parenterálnej výžive <sup>9)</sup>, ale i práce, ktoré sledujú obsah prvkov ako účinnej látky v multivitamínových výživových doplnkoch ICP-MS <sup>10)</sup> ako aj ICP-OES (metóda indukčne viazanej plazmy s atómovým optickým spektrometrom) <sup>11, 12)</sup>.

Pre farmaceutickú prax je na stanovenie kovov dostupnejšia AAS, ktorá je oficiálnou metódou. Jej nevýhodou je potreba úpravy tuhej vzorky lieku, liečiva do roztoku, ktorá je často spojená s mineralizáciou vzorky a následným zakoncentrovaním.

V prácach <sup>13, 14)</sup> boli porovnávané spôsoby mineralizácie suchou a mokrou cestou pre prvky Fe, Zn, Ca, Mg, Na a K v dietetických a dentálnych prípravkoch.

Soylak et al. <sup>15)</sup> použili AAS na stanovenie Cr, Co, Mn a Ni po extrakcii na tuhej fáze Amberlite XAD-1180.

Obsah nečistôt napr. Al z obalového materiálu v roztokoch 19 aminokyselín, KCl, NaCl, glukózy, heparínu a albumínu sledovali Bohrer et al. <sup>16, 17)</sup>, Fe<sup>3+</sup> v sirupoch Gioia et al. <sup>18)</sup> a Pd a Fe v metotrexáte Niemelä et al. <sup>19)</sup>.

Hoci pre stanovenie prvkov sa používajú i spektrofotometrické metódy <sup>20-23)</sup> tieto sú skôr zamerané na stanovenie prvku napr. Zn, Mn, Fe, Cu ako hlavných zložiek, často účinných látok farmaceutického prípravku.

ICP-MS, ICP-AES a NAA sa však vyznačujú nízkymi medzami detekcie avšak náklady na prevádzku ich robia nedostupnými pre väčšinu laboratórií.

Pre stanovenie prvkov v tuhých vzorkách je vhodná röntgenofluorescenčná analýza (XRF) s rôznymi spôsobmi excitácie vzorky. Je to nukleárna analytická metóda pre polykomponentné stanovenie obsahu prvkov vo vzorke (10<sup>-3</sup>–10<sup>-6</sup>). V Európskom liekopise i v Slovenskom liekopise je uvedená ako röntgenofluorescenčná spektrometria. V kombinácii s technikami zakoncentrovania sa dajú dosiahnuť nízke medze detekcie pri polykomponentnej analýze. Výhodou je jednoduchá kvantifikácia v širokom rozsahu koncentrácií pri malom množstve vzorky a možnosť analýzy vzorky v tuhom skupenstve bez nutnej deštrukcie vzorky. Je polykomponentná a umožňuje identifikovať a stanoviť viacero prvkov vedľa seba v jednom meraní rýchlo a presne, je vysoko výkonná a finančne dostupná <sup>24, 25)</sup>.

Stanovovaním nečistôt a obsahu prvkov vo farmaceutických prípravkoch, liekoch, liečivách a pomocných látkach röntgenofluorescenčnou spektrometriou sa zaoberali viacerí autori. Wagner et al. <sup>4, 26)</sup> stanovovali obsah stopových prvkov pomocou XRF v lecitíne, inzulíne, prokaíne a tryptofáne od rôznych výrobcov a rôznych šarží a možnosťou rozlíšenia ich pôvodu vďaka charakteristickým spektrám. Porovnali aj vplyv čistiacich procesov počas výroby substancií na obsah prvkov vo vzorke.

Muratsu et al.<sup>27)</sup> zisťovali pomocou röntgenofluorescenčnej analýzy pôvod drog metamfetamínu, amfetamínu, 3,4-metyléndioxymetamfetamínu, kokaínu, heroínu, ópia a marihuany, na základe stanovenia prvkov vo vzorkách.

Blanc et al.<sup>28)</sup> použili röntgenofluorescenčnú analýzu ako metódu pre rýchlu identifikáciu anorganických solí, ktoré identifikovali na základe prítomnosti prvkov Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Cu a Zn.

Rádionuklidovú röntgenofluorescenčnú analýzu (RRFA) použil Zucchi et al.<sup>29)</sup> na stanovenie znečistení Fe, Ni, Cu, Zn v tabletách s obsahom digoxínu so zdrojom žiarenia <sup>238</sup>Pu. Vzorky tabliet boli rozpustené a mineralizované mokrou cestou. Prvky v mineralizáte boli podrobené zakoncentrovaniu s pyrolidínditiokarbamátom amónnym a zachytené na membránový filter, ktorý bol analyzovaný. V ďalšej ich práci<sup>30)</sup> sledovali obsah stopových prvkov (K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb a Sr) ako nečistôt v rôznych šaržiach a liekových formách obsahujúcich diklofenak sodný pomocou SR-TXRF (röntgenofluorescenčná analýza s úplným odrazom budená synchronným žiarením).

Mino a Yamada<sup>31)</sup> vo svojej práci sledovali obsah arzénu a ortuti v niektorých prípravkoch tradičnej čínskej medicíny pomocou röntgenofluorescenčnej analýzy. Vzorky boli eluované umelou žalúdočnou šťavou, umelou intestinálnou šťavou a vode. Eluáty boli vysušené lyofilizáciou, po zriedení s práškovitou celulózu bola sušina upravená do tabliet, ktoré boli podrobené röntgenofluorescenčnej analýze.

Sýkorová a Havránek<sup>32)</sup> použili RRFA metódu s rádionuklidovým zdrojom <sup>238</sup>Pu na identifikáciu a stanovenie obsahov prvkov Fe, Cu, Zn a Pb vo farmaceutických pomocných látkach ako AEROSIL, SILOXID a želatína.

Mnohé práce, ktoré sa zaoberajú stanovením prvkov ako nečistôt röntgenofluorescenčnou analýzou, sa zameriavajú na prekoncentračné postupy.

Kelko-Lévai et al.<sup>6)</sup> sa zaoberali zakoncentrovaním prvkov na iminodiacetylcelulózoých mikrokolónkach s následným stanovením stopových prvkov Cd, Co, Ni, Pb v liekoch a liečivách. Vo vzorkách ako sú paracetamol, sorbitol a iné sa im podarilo od seba odseparovať Cr<sup>3+</sup> a Cr<sup>6+</sup> s použitím iónomeniča.

Belikov et al.<sup>33)</sup> stanovovali nečistoty v dihydrogénfosforečnane draselnom. Princípom bolo zakoncentrovanie prvkov tvorbou komplexov 8-hydroxychinolínom vo vodných roztokoch, ich zachytenie na aktívnom uhlí, filtrácia zmesi a následná analýza filtrov s RRFA. Na fixáciu práškoveho aktívneho uhlia na filter bol použitý 1-hexadekanol.

Latva et al.<sup>34)</sup> sledovali sorpciu zlúčenín selénu na aktívnom uhlí, ktorého adsorpčné vlastnosti boli ovplyvňované kovmi. Obsah selénu bol stanovený röntgenofluorescenčnou spektrometriou.

Ekспериандова et al.<sup>35)</sup> stanovovali obsah ťažkých kovov v prírodných vodách a čistých soliach za vzniku karbamátov kovov, ktoré boli z roztoku izolované kryštalizáciou.

Iwatsuki et al.<sup>36)</sup> použili zrážanie na stanovenie v kyseline rozpustných a nerozpustných prvkov ako Mn,

Fe, Ni, Cu a Zn v morských soliach. Analýze boli podrobené membránové filtre so zrazeninou.

Röntgenofluorescenčná analýza okrem stanovenia nečistôt uvedených v SL 1 v kapitole 2.4 Limitné skúšky pre anorganické nečistoty ako napr. stanovenie arzénu, stanovenie železa, stanovenie olova v cukroch a stanovenie niklu v polyoloch, ktoré sú založené buď na farebnej zmene chemickej reakcie vzorky so skúmadlom, alebo na stanovení prvku inštrumentálnou metódou, sa môže použiť i pri Skúškach totožnosti, kde sú uvedené spôsoby dôkazu Sb, As, Bi, Pb, K, Hg, Ag, Ca, Zn, Fe a ďalších iónov a skupín vo vzorkách liečiv a liekov. Použitie chemické metódy dôkazu môžu byť nahradené i inštrumentálnymi analytickými metódami. Röntgenofluorescenčná spektrometria však neumožňuje rozlíšiť jednotlivé chemické formy prvku<sup>2)</sup>.

Röntgenofluorescenčná analýza umožňuje stanoviť i obsah liečiva a lieku vo vzorke na základe stanovenia obsahu prvkov. Pre správny výsledok analýzy je dôležitá príprava štandardov. Stanovením obsahu prvkov touto metódou v liekoch sa zaoberali autori Havránek et al.<sup>37)</sup>, ktorí vypracovali metodiku RRFA pre stanovenie brómu v preparátoch zo skupiny sedatív a analgetik z jednej kalibračnej krivky. V inej zo svojich prác Havránek et al.<sup>38)</sup> stanovovali obsah brómu v lieku Bromisoval tbl. RRFA za použitia <sup>109</sup>Cd ako rádionuklidového zdroja excitujúceho žiarenia.

Raggi et al.<sup>39)</sup> stanovili obsah Br v liečivách brotizolam, clidinium bromid, bromokriptin a bromperidol. Sledovali aj vplyv ostatných zložiek tabliet na výsledok analýzy. Na excitáciu použili röntgenovú trubicu.

### Obsah nečistôt v rastlinnom materiále

Obsah nečistôt sa stanovuje aj v rastlinnom materiále liečivých rastlín a prípravkov obsahujúcich liečivé rastliny. Často sú využívané oficínálne metódy AAS a AES (atómová emisná spektrometria). Caldas a Machado<sup>40)</sup> analyzovali vzorky liečivých rastlín používaných v Brazílii po digescii kyselinou dusičnou a sledovali obsah Cd, Hg a Pb.

Ajasa a kol.<sup>41)</sup> analyzovali obsah vybraných toxických prvkov (Fe, Mn, Pb a Zn) a makroelementov (Na, K, Mg a Ca) v niektorých dôležitých liečivých rastlinách z juhovýchodnej časti Nigérie pomocou AAS.

Soceanu et al.<sup>42)</sup> sledovali obsah kovových prvkov Cu, Pb, Cr, Zn a Ni v rôznych častiach citrusových plodov (pomaranč, citrón, grepfruit) pomocou FAAS (plameňová absorpčná spektrometria) po mineralizácii.

Dwivedi a Dey<sup>43)</sup> sledovali možnosti kolobehu ťažkých kovov v potravinovom reťazci v Indii. Sledovali 28 bežne používaných liečivých rastlín a stanovili v nich obsah ťažkých kovov AAS. Rastlinný materiál mali z rovnakých zdrojov ako ľudoví liečitelia a komerční spracovatelia rastlinných drog.

Mnohé práce sú venované stanovovaniu obsahu tých prvkov v rastlinnom materiále, ktoré sú esenciálne pre rastlinu vo vzťahu k ich účinku a toxicite. Gomez et al.<sup>44)</sup> sledovali obsah kovových prvkov (Ca, Cu, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni a Zn) v prípravkoch obsahujúcich *Hypericum perforatum* s cieľom stanoviť ich normálny koncentračný

rozsah a posúdiť ich úlohu v liečení ľudí. Na stanovenie koncentrácií použili metódy FAAS a ETAAS (atómová absorpčná spektrometria s elektrotermickou atomizáciou) a kapilárnu elektroforézu.

Szantmihályi et al.<sup>45)</sup> použili AES na stanovenie obsahu K a Na v čerstvých rastlinných drogách a odvaroch s cieľom posúdiť ich diuretickú aktivitu. Pomer K/Na bol vyšší v odvaroch diuretických rastlín než v čerstvých drogách rastlín používaných na rôzne účely.

Pikulíková et al.<sup>46)</sup> stanovovali obsah Mn a Zn v droge *Folium betulae* z rôznych lokalít metódou AAS po mineralizácii drogy suchou cestou s následným rozpuštením popola.

Ražić et al.<sup>47,48)</sup> sledovali prvkové zloženie *Echinacea purpurea* a 26 rastlín vypestovaných v Srbsku. Analyzované boli prvky Zn, Fe, Cu, Mn, Ca, K, Al, Mg, Sr, Ni, Ba a Li FAAS, FAES (plameňová atómová emisná spektrometria) a ICP-AES.

ICP metódou na zistenie prvkového zloženia čerstvých rastlín, sušených rastlín a ich extraktov ich využili viacerí autori<sup>49-51)</sup>.

Z iných metód odborná literatúra uvádza neutrónovú aktivačnú analýzu, ktorou Kumar et al.<sup>52)</sup> analyzovali obsah prvkov (Al, Ca, Cl, Mg, Na, K, P, Ba, Br, Co, Cr, Cs, Fe, Hg, La, Mn, Rb, Sc, Se, Th, V, Zn) v bylinkovom nápoji Pragma-peya.

Ďalej sa používa diferenčná pulzná polarografia, ktorou Svičeková a Havránek<sup>53,54)</sup> analyzovali vzorky rastlín a Baranowska et al.<sup>55)</sup> ňou stanovili obsah ťažkých kovov Cd, Pb, Zn, Ni a Mo v 27 vzorkách liečivých rastlín pochádzajúcich z rôznych lokalít v Bielsko Biala po mineralizácii mokrou cestou.

Diferenčnú pulznú rozpúšťaciu voltometriu použili Vargas a Mamani<sup>56)</sup> na stanovenie obsahu Cd a Pb vedľa seba v popoloch liečivých rastlín (*Hypericum perforatum*, *Mikania guaco*, *Micania glomerata* a *Peumus boldo*) za použitia ortuťovej kvapkovej elektródy a Sekulíc a kol.<sup>57)</sup> stanovovali obsah stopových ťažkých kovov Zn, Cu, Pb, Cd v rastlinách *Achillea millefolium* L., *Thymus serpyllum* L. *Chamomilla recutita* L. diferenčnou pulznou anodickou voltometriou a porovnávali ho s obsahom v sušených rastlinách.

Bašistová et al.<sup>58)</sup> stanovovali obsah ťažkých kovov v rastlinnej droge *Ginkgo biloba* chronopotenciometrickou stripping analýzou a Planková et al.<sup>59)</sup> stanovovali obsah selénu v *Saccharomyces cerevisiae* a v probiotických kultúrach galvanostatickou rozpúšťacou chronopotenciometriou. Feng et al.<sup>60)</sup> použili kapilárnu elektroforézu ako metódu na stanovenie stopových prvkov (Cu, Fe, Zn, Co a Ni) v čajoch ako komplexov kovov s 4-(2-pyridylazo)rezorcínolom (PAR).

### Stanovení obsahu kovových prvkov v rastlinnom materiále

Viacerí autori sa zaoberali stanovením obsahu kovových prvkov v rastlinnom materiále – v rastlinných drogách a prípravkoch obsahujúcich liečivé rastliny pomocou röntgenofluorescenčnej spektrometrie. Salvador et al.<sup>61)</sup> stanovili obsah prvkov Fe, Co, Ni, Cu, Zn

v piatich druhoch liečivých rastlín, ktoré sú surovinou na výrobu čajov a metódu doporučili na kontrolu kvality čajov vo výrobnom procese. Na excitáciu vzorky použili röntgenovú trubicu. Sledovali aj obsah prvkov v získaných odvaroch a záparoch. Odvar alebo zápar zbavili vody lyofilizáciou, tuhý zvyšok zmineralizovali s  $H_2SO_4$  a  $H_2O_2$ . Mineralizát použili na zrážanie s pyrolidinditiokarbamátom amónnym. V iných svojich prácach<sup>62,63)</sup> sledovali prvkové zloženie nadzemných a podzemných častí rastlín.

Obiajunwa et al.<sup>64)</sup> k analýze obsahu makro-, mikroprvkov a toxických prvkov v liečivých rastlinách použili röntgenovú trubicu. Rovnaký spôsob excitácie použili aj Anjos et al.<sup>65)</sup>.

Mohanta et al.<sup>66)</sup> sledovali prvkové zloženie jednotlivých častí liečivých rastlín pomocou PIXE (protónmi indukovaná röntgenofluorescenčná spektrometria), ktorá používa na excitáciu vzorky prúd protónov.

Mino et al.<sup>67-70)</sup> v sérii prác stanovili obsah prvkov v liečivých rastlinách pomocou klasickej röntgenofluorescenčnej analýzy, rovnako ako aj Ekinici et al.<sup>71)</sup>.

Prekoncentračným postupom pri stanoveniach röntgenofluorescenčnou analýzou sa zaoberali López de Ruiz et al.<sup>72)</sup>, Nagashima et al.<sup>73)</sup>, Kocman et al.<sup>74)</sup>.

Ray et al.<sup>75)</sup> použili EDXRF (klasická röntgenofluorescenčná spektrometria) metódu pre identifikáciu a stanovenie koncentrácie prvkov K, Ca, Fe, Cr, Mn, Cu, Zn, Rb, Sr a Ph vo listoch 11 rastlín bežne používaných na liečbu diabetes mellitus vo východnej Indii.

Holynska et al.<sup>76,77)</sup> sa v práci venovali stanoveniu obsahov prvkov Ca, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Pb v rašeline z vybraných oblastí Rakúska a Poľska vo vzťahu k znečistenému ovzdušiu. Fiori<sup>78)</sup> stanovoval obsah Fe v listoch olivovníka EDXRF s cieľom študovať choroby rastlín.

Porovnávaním liekopisných metód, AAS, ICP-MS, ICP-AES, NAA s röntgenofluorescenčnou analýzou pri analýze obsahu prvkov v rastlinnom materiále sa zaoberali Queralt et al.<sup>79)</sup>, Djingova et al.<sup>80,81)</sup>.

Jednou z možností excitácie vzorky je excitácia pomocou rádionuklidového zdroja. Rádionuklidová röntgenofluorescenčná analýza (RRFA) dosahuje nízke detekčné limity a reprodukovateľnosť výsledkov analýz výberom energie rádionuklidového zdroja a jeho aktivity, geometriou merania a prípravou konkrétnej vzorky k analýze. Ivanova et al.<sup>82,83)</sup> porovnávali použitie rôznych rádionuklidových zdrojov pri stanovení toxických prvkov v rastlinách metódou EDXRF. Používali zdroje  $^{238}\text{Pu}$ ,  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{55}\text{Fe}$ ,  $^{241}\text{Am}$ . Vo vzorkách rastlín stanovili obsah prvkov Co, Cr, Fe, Mn, Ni a vo vzorke pôdy stanovili As, Ba, Fe, Pb, Sr, Rb, Zr.

$^{238}\text{Pu}$  použili ako zdroj žiarenia Havránek et al.<sup>84,85)</sup>, ktorí sledovali prvkové zloženie liečivých rastlín, Beláková et al.<sup>86-88)</sup> a Zucchi et al.<sup>89)</sup>, ktorí stanovili obsah S, K, Ca, Sc, Ti, V, Mn, Fe, Co, Cu a Zn v dvoch liečivých rastlinách z čeľade *Amaranthaceae*.

Rádionuklidové zdroje žiarenia  $^{55}\text{Fe}$  a  $^{241}\text{Am}$  použili Aslan et al.<sup>90)</sup>, ktorí sledovali koncentrácie prvkov v 15 druhoch lišajníka z rôznych oblastí Artvin Murgul (Turecko) a v ich popoloch.

Prípravou vzoriek k rádionuklidovej röntgenofluo-

rescenčnej analýze sa zaoberali viacerí autori ako napr. Havránek et al.<sup>91-93</sup>, Štroffeková a Havránek<sup>94</sup>, ktorí použili chelatačné disky 3M Empore™ na extrakciu prvkov Fe, Cu, Zn, Pb zo záparov výluhov čajov a porovnali ich s obsahom prvkov v pôvodnom čaji a Bumbálová et al.<sup>95</sup>, ktorí v záparoch stanovili obsah prvkov Ca, Zn, Sr po zakoncentrovaní prvkov s ionomeničom OSTSORB-DTTA.

#### Akumulácia prvkov v rastlinách

Časť prác sa venuje akumulácii prvkov v rastlinách ako Razafindramisa et al.<sup>96</sup>, ktorí študovali v rastlinách a vodných výluhoch z *Alternanthera maritima*, *Alternanthera brasiliensis* a *Alternanthera tenella colla* bioakumuláciu kovových prvkov pomocou SR-TRXRF, Carvalho et al.<sup>97</sup>, Kráľová et al.<sup>98</sup>, Fargašová et al.<sup>99,100</sup>, Vives et al.<sup>101</sup>.

Kráľová a Masarovičová<sup>102</sup> a Šeršeň et al.<sup>103</sup> sledovali obsah kovových prvkov v rastlinách pestovaných hydroponicky po pridaní toxických prvkov do kultivačného roztoku. Šeršeň et al.<sup>104</sup> sledovali pôsobenie Hg<sup>2+</sup> iónov na fotosyntézu chloroplastov *Spinacea oleracea* L. pomocou rádionuklidovej röntgenofluorescenčnej analýzy. Vplyv Cd na koncentrácie prvkov K, Ca, Fe, Cu, Zn v rastline *Acer pseudoplatanus* L. Carvalho et al.<sup>105,106</sup>.

---

#### ZÁVER

---

Liekopisné skúšky na ťažké kovy sa zdajú byť nedostačujúce, pretože neposkytujú informácie o konkrétnych prvkoch a ich koncentráciách. Preto sa stále častejšie využívajú inštrumentálne metódy, ako je AAS, AES, ICP pri kontrole čistoty liekov, liečiv, farmaceutických pomocných látok ako aj liečivých rastlín. Jednou z možností je aj röntgenofluorescenčná analýza, ktorá je vhodná pre svoju rýchlosť, citlivosť a polykomponentnosť.

Práca je zahrnutá do výskumných projektov grantovej agentúry MŠ SR VEGA č. 1/1196/04.

---

#### LITERATÚRA

---

1. **Bezáková, Ž.:** Analýza chemických liečiv. Skúšky na čistotu liečiv I. UK, Bratislava, 1995, s. 153
2. Slovenský liekopis. 1. vyd., zv. I., Bratislava, Herba, 1997, s. 657.
3. Slovenský liekopis. 1. vyd., zv. II., Bratislava, Herba, 1999, s. 1400.
4. **Wagner, M. et al.:** Spectrochim. Acta, Part B, 1997; 52, 961-965.
5. **Ciciarelli, R. et al.:** Pharmacop. Forum, 1995; 21, 1638-1640.

6. **Kelko-Lévai, A. et al.:** Spectrochim. Acta, Part B, 1999; 54, 927-833.
7. **Wang, T. et al.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2000; 23, 867-890.
8. **Lewen, N. et al.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2004; 35, 739-752.
9. **Pluharton-Murton, M. M et al.:** J. Parenter. Enter. Nutr., 1999; 23, 222-227.
10. **Soltyk, K. et al.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2003; 32, 425-432.
11. **Krampitz, P. D., Barnes, K. W.:** At. Spectrosc., 1998; 19, 43-44.
12. **Krejčová, A. et al.:** Food Chem., 2006; 98, 171-178.
13. **Cafranc, E. et al.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2001; 25, 103-108.
14. **Zachariadis, G. A.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2002; 28, 463-473.
15. **Soylak, M. et al.:** Turk. J. Chem., 2003; 27, 235-242.
16. **Bohrer, D. et al.:** J. Trace Elem. Med. Biol., 1995; 15, 103-108.
17. **Bohrer, D. et al.:** J. Trace Elem. Med. Biol., 1995; 15, 95-101.
18. **Gioia, M. G., Di Pietra, A. M., Gatti, R.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2002; 29, 1159-1164.
19. **Niemelä, M. et al.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2004; 35, 433-439.
20. **Nohut, S. et al.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 1999; 20, 309-314.
21. **Zareba, S., Hopkala, H.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 1996; 14, 1351-1354.
22. **Benamor, M., Belhamel, K., Draa, M. T.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2000; 23, 1033-1038.
23. **Karpinska, J., Kulikowska, M.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2002; 29, 153-158.
24. **Tölgýessy, J., Havránek, E., Dejmková, E.:** Rádionuklidová röntgenofluorescenčná analýza zložiek životného prostredia. Bratislava, Alfa, 1983, s. 203.
25. **Potts, P. J. et al.:** J. Anal. At. Spectrom., 2003; 18, 1297 až 1316.
26. **Wagner, M. et al.:** Pharmazie, 1996; 51, 856-868.
27. **Muratsu, S. et al.:** J. Forensic. Sci., 2002; 47, 944-949.
28. **Blanc, J., Popoulaire, S., Perring, L.:** Anal. Sci., 2005; 21, 795-798.
29. **Zucchi, O. L. A. D., Nascimento, V. F., Neto, H. S.:** J. Trace Microprobe Tech., 2002; 20, 141-149.
30. **Zucchi, O. L. A. D. et al.:** Instrum. Sci. Technol., 2005; 33, 215-227.
31. **Mino, Y., Yamada, Y.:** J. of Health Sci., 2005; 51, 607-613.
32. **Sýkorová, M., Havránek, E.:** Ces. slov. Farm., 2003; 52, 203-206.
33. **Belikov, K. N. et al.:** X-Ray Spectrom., 2006; 35, 112-115.
34. **Latva, S., Peraniemi, S., Ahlgren, M.:** Anal. Chim. Acta, 2003; 478, 229-235.
35. **Eksperiandova, L. P., Makarovska, Y. N., Blank, A. B.:** Anal. Chim. Acta, 1998; 371, 105-108.
36. **Iwatsuki, M. et al.:** Anal. Sci., 1996; 12, 71-75.
37. **Havránek, E., Bumbálová, A., Němčíková, A.:** Farm. Obzor, 1974; 43, 147-149.
38. **Havránek, E., Bumbálová, A., Fanta, V.:** Chem. Zvesti, 1979; 33, 507-514.
39. **Raggi, M. A., Lucchini, F., Da Re, P.:** Collect. Czech. Chem. Commun., 1991; 56, 2229-2233.
40. **Caldas, E. D., Machado, L. L.:** Food Chem. Toxicol., 2004; 42, 599-603.
41. **Ajasa, A. M. O. et al.:** Food Chem., 2004; 85, 67-71.
42. **Soceanu, A. et al.:** Rev. Chim., 2005; 56, 115-117.
43. **Dwivedi, S. K., Dey, S.:** Arch. Environ. Health, 2002; 57, 229-231.

44. **Gomez, M. R. et al.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2004; 34, 569-576.
45. **Szantmihályi, K. et al.:** Phytother. Res., 1998; 12, 163-166.
46. **Pikulíková, A., Valášková, I., Lubkeová, S.:** Ces. slov. Farm., 2000; 49, 131-133.
47. **Ražić, S., Onjia, A., Potkonjak, B.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2003; 33, 845-850.
48. **Ražić, S. et al.:** Talanta, 2005; 67, 233-239.
49. **Fernández, P. L. et al.:** Food Chem., 2002; 76, 483-489.
50. **Lemberkovics, E. et al.:** Food Chem., 2002; 78, 119-127.
51. **Sato, K. et al.:** J. Food Hyg. Soc. Jpn., 1991; 32, 538-542.
52. **Kumar, A.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2005; 37, 631-638.
53. **Svičeková, M., Havránek, E.:** Pharmazie, 1995; 50, 302-306.
54. **Svičeková, M., Havránek, E.:** Ces. slov. Farm., 1999; 48, 129-131.
55. **Baranowska, I. et al.:** Pol. J. Environ. Stud., 2002; 11, 467-471.
56. **Vargas Mamani, M.C. et al.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2005; 37, 709-713.
57. **Sekulić, B., Martinis, M., Peharec, Ž.:** Period. Biol., 2004; 106, 437-441.
58. **Bašistová, G. et al.:** Analytická chémia v praxi. Prírodovedská fakulta UK, 2000, s. 44.
59. **Planková, A. et al.:** Farm. Obzor, 2003; 72, 3-5.
60. **Feng, H., Wang, T., Li, S. F. Y.:** Food Chem., 2003; 81, 607-611.
61. **Salvador, M. J. et al.:** X-ray Spectrom., 2002; 31, 141-144.
62. **Salvador, M. J. et al.:** J. Trace Microprobe Tech., 2003; 21, 377-388.
63. **Salvador, M. J. et al.:** Instr. Sci. Tech., 2004; 32, 321-333.
64. **Obiajunowa, E. I., Adebajo, A. C., Omobowajo, O. R.:** J. Radioanal. Nucl. Chem., 2002; 252, 473-476.
65. **Anjos, M. J.:** X-Ray Spectrom., 2002; 31, 120-123.
66. **Mohanta, B. et al.:** J. Radioanal. Nucl. Chem., 2003; 258, 175-179.
67. **Mino, Y., Ota, N.:** Chem. Pharm. Bull., 1990; 38, 709-713.
68. **Mino, Y., Torii, H., Ota, N.:** Chem. Pharm. Bull., 1990; 38, 1936-1941.
69. **Mino, Y. et al.:** Chem. Pharm. Bull., 1990; 38, 2204-2207.
70. **Mino, Y., Ota, N.:** Chem. Pharm. Bull., 1990; 38, 2208-2211.
71. **Ekinici, N. et al.:** J. Radioanal. Nucl. Chem., 2004; 260, 127-131.
72. **López De Ruiz, R. E., Olsina, R. A., Masi, A. N.:** X-Ray Spectrom., 2002; 31, 150-153.
73. **Nagashima, M. et al.:** Jpn. J. Toxicol. Environ. Health., 1996; 42, 519-523.
74. **Kocman, V., Peel, T. E., Tomlinson, G. H.:** Commun. Soil. Sci. Plant Anal., 1991; 22, 2063-2075.
75. **Ray, D. K. et al.:** Indian Journal of Physics and Proceedings of the Indian Association for the Cultivation of Science – Part B, 2004; 78, 103-105.
76. **Holynska, B. et al.:** X-Ray Spectrom., 2002; 31, 12-15.
77. **Holynska, B., Ostachowicz, B., Samek, L.:** X-Ray Spectrom., 1999; 28, 372-375.
78. **Fiori, M.:** J. Radioanal. Nucl. Chem., 2001; 249, 509-512.
79. **Queralt, I. et al.:** X-Ray Spectrom., 2005; 34, 213-217.
80. **Djingova, R., Ivanova, J., Kuleff, I.:** J. Radioanal. Nucl. Chem., 1998; 237, 25-34.
81. **Djingova, R., Kuleff, I.:** Chem. and Ecol., 1999; 16, 239-253.
82. **Ivanova, J., Djingova, R., Kuleff, I.:** J. Radioanal. Nucl. Chem., 1998; 238, 29-32.
83. **Ivanova, J., Djingova, R., Kuleff, I.:** J. Radioanal. Nucl. Chem., 1999; 242, 569-575.
84. **Havránek, E. et al.:** Rádioaktivita a životné prostredie, 1983; 6, 305-315.
85. **Havránek, E., Beláková, M., Bujna, J.:** Českoslov. Farm., 1991; 40, 121-124.
86. **Beláková, M., Havránek, E., Bujna, J.:** Českoslov. Farm., 1991; 40, 226-229.
87. **Beláková, M., Havránek, E., Bujna, J.:** Čes. a Slov. Farm., 1994; 43, 209-213.
88. **Beláková, M., Havránek, E., Bumbálová, A.:** J. Radioanal. Nucl. Chem. Lett., 1995; 201, 431-437.
89. **Zucchi, O. L. A. D. et al.:** J. Trace Microprobe Tech., 2000; 18, 441-450.
90. **Aslan, A. et al.:** Fresenius' Environ. Bull., 2004; 13, 740-747.
91. **Havránek, E. et al.:** Rádioaktivita a životné prostredie, 1981; 4, 289-298.
92. **Havránek, E. et al.:** Chem. Zvesti, 1983; 37, 201-208.
93. **Havránek, E., Dejmková, E., Bumbálová, A.:** Acta Facult. Pharm. Univ. Comeniana, 1984; 38, 219-243.
94. **Štroffeková, O., Havránek, E.:** Čes. slov. Farm., 2004; 53, s. 323-327.
95. **Bumbálová, A., Komová, M., Dejmková, E.:** J. Radioanal. Nucl. Chem. Letters., 1992; 166, 55-62.
96. **Razafindramisa, F. L. et al.:** J. Phys. (IV), 1996; 6, 833-842.
97. **Carvalho, M. L., Pimentel, A. C., Fernandes, B.:** Anal. Sci., 2005; 21, 747-750.
98. **Králová, K. et al.:** Fresenius' Environ. Bull., 2003; 12, 852-856.
99. **Fargašová, A., Bumbálová, A., Havránek, E.:** J. Radioanal. Nucl. Chem., 1997; 218, 107-110.
100. **Fargašová, A., Bumbálová, A., Havránek, E.:** Chemosphere, 1999; 38, 1165-1173.
101. **Vives, A. E. S.:** X-Ray Spectrom., 2005; 34, 411-416.
102. **Králová, K., Masarovičová, E.:** Pharmazie, 2003; 58, 359-360.
103. **Šeršeň, F. et al.:** Fresenius Environ. Bull., 2005, 14, 13-15.
104. **Šeršeň, F., Králová, K., Bumbálová, A.:** Photosynthetica, 1998; 35, 551-559.
105. **Carvalho, M. L., Silveira, L., Casimiro, A.:** Anal. Bioanal. Chem., 2002; 373, 827-829.
106. **Carvalho, M. L. et al.:** X-Ray Spectrom., 2005; 35, 406-410.

Došlo 5. 2. 2006.

Přijato ke zveřejnění 22. 6. 2006.

Mgr. Veronika Jánošová  
 Odbojárov 10, 832 32, Bratislava, SR  
 e-mail: janosova@fpharm.uniba.sk