

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДУ ВИЗНАЧЕННЯ СВИНЦЮ, КАДМІЮ, АРСЕНУ У М'ЯСІ ТА М'ЯСОПРОДУКТАХ АТОМНО-АБСОРБЦІЙНОЮ СПЕКТРОМЕТРІЄЮ З ЕЛЕКТРОТЕРМІЧНОЮ АТОМІЗАЦІЄЮ

С. В. ШУЛЯК, кандидат ветеринарних наук

К. С. МЯГКА, кандидат ветеринарних наук

Державний науково-дослідний інститут з

лабораторної діагностики та ветсанекспертизи

С. А. ТКАЧУК, доктор ветеринарних наук, професор

Національний університет біоресурсів і природокористування України

О. С. ГАЙДЕЙ, кандидат ветеринарних наук

Державний науково-дослідний інститут з

лабораторної діагностики та ветсанекспертизи

Н. А. МЕЖЕНСЬКА, кандидат ветеринарних наук, доцент

Інституту ветеринарної медицини НААН

І. Ю. БАРДИК, головний фахівець лабораторії атомно-абсорбційної спектрофотометрії

Державний науково-дослідний інститут

з лабораторної діагностики та ветсанекспертизи

E-mail: ohdin@ukr.net

<https://doi.org/10.31548/dopovidi2021.05.012>

***Анотація.** Токсичність важких металів створює появу ризиків для здоров'я, як людини, так і тварин, виходячи з їх здатності до накопичення в організмі. Токсичність металу залежить від поглиненої дози, шляху та тривалості впливу. Вчасне визначення важких металів у харчових продуктах, відповідно до затверджених у ЄС методів оцінки, є актуальним завданням.*

Метою дослідження було провести валідацію методу визначення свинцю, кадмію, арсену в м'ясі та м'ясопродуктах методом атомно-абсорбційної спектрометрії з електротермічною атомізацією.

Для визначення арсену та кадмію використовували атомно-абсорбційний спектрофотометр Thermo Solaar (США), для визначення свинцю – атомно-абсорбційний спектрофотометр Varian 240 G (Австралія).

Для мінералізації зразків і приготування фонових і калібрувальних розчинів використовували азотну кислоту (Merck, Німеччина), сертифіковані стандартні розчини (Merck, Німеччина) згідно затверджених методів

У процесі дослідження встановлені валідаційні характеристики методу визначення свинцю, кадмію та арсену атомно-абсорбційною спектрометрією з електротермічною атомізацією, а саме: межа детектування, межа кількісного визначення, точність, правильність, збіжність, відтворюваність, селективність та лінійність.

Шуляк С. В., Мягка К. С., Ткачук С. А., Гайдей О. С., Меженська Н. А., Бардик І. Ю.

Доведено точність, практичність та універсальність цього методу, що підтверджується показниками LOD і LOQ: для свинцю 0,31 і 10,0 мкг/кг, кадмію 0,3 і 5,0 мкг/кг, арсену 0,2 і 10,0 мкг/кг.

Отримані результати та валідаційні дані щодо точності, та відтворюваності є відповідними вимогам Європейського законодавства щодо залишкового вмісту важких металів у м'ясі та м'ясопродуктах.

Ключові слова: валідація методу, атомно-абсорбційна спектрометрія, метали, м'ясо і м'ясопродукти

Актуальність. Токсичність важких металів створює появу ризиків для здоров'я, як людини, так і тварин, зважаючи на їх здатність до накопичення в організмі. Токсичність металу залежить від поглиненої дози, шляху та тривалості впливу. Це може призвести до різних порушень, а також – до надмірної шкоди внаслідок окисного стресу, спричиненого утворенням вільних радикалів [1,2].

Одним з основних джерел надходження важких металів в організм людини є харчові продукти. Тому, вчасне визначення важких металів у харчових продуктах, відповідно до затверджених у ЄС методів оцінки, є актуальним завданням.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Накопичення важких металів у їстівних органах тварин зумовлено антропогенною діяльністю людини, раціоном годівлі. Під час оцінки вмісту залишків важких металів у 450 зразках м'яса (нирок, печінки та м'язів) із 150 випадково відібраних туш кіз, виявлено, що принаймні один із них був виявлений у 56 % туш. Середні концентрації миш'яку становили $0,53 \pm 0,10$ мг/кг,

$0,57 \pm 0,09$ мг/кг і $0,45 \pm 0,08$ мг/кг, свинцю – $0,48 \pm 0,38$ мг/кг, $0,45 \pm 0,24$ мг/кг і $0,82 \pm 0,39$ мг/кг, кадмію $0,06 \pm 0,32$ мг/кг, $0,02 \pm 0,00$ мг/кг і $0,02 \pm 0,00$ мг/кг для тканин нирок, печінки та м'язів, відповідно [3].

Нині перелік офіційних методів рекомендованих ЄС для визначення важких металів у кормах і харчових продуктах передбачає застосування атомно-абсорбційної спектрометрії з полум'яною [4] та електротермічною атомізацією, атомно-абсорбційної спектрофотометрії [5], індуктивно зв'язаної атомно-емісійної спектрометрії, методу анодної вольтамперметрії [6,7]. Кожен із цих методів має свої переваги та недоліки, різну межу чутливості, та селективність.

Натомість, у науковій літературі можна зустріти підтвердження тому, що прослідковується різниця у проведенні досліджень за різними методами і відповідно результати мають різницю, як в одиницях вимірювання, так і числових значеннях. Так, за методом електротермічної атомно-абсорбційної спектрометрії для прямого визначення кадмію та

свинцю у свіжому м'ясі зразки свіжого м'яса гомогенізували, зважували безпосередньо на твердих платформах для відбору проб і вводили у поперечно нагріту графітову трубку. Водночас, досліджували помилки зважування та оптимізацію температурної програми. Калібрування проводили за водними стандартами та досліджували два модифікатори: 0,05% Pd + 0,03 % Mg + 0,05 % Triton X-100 та 0,01 % Pd + 10 % NH₄HEMAC₃ + 0,05 % Тритон X-100. Перший рекомендований через більш високу температуру піролізу, отриману для кадмію, і кращі межі виявлення – 1,9 мкг кг⁻¹ для свинцю та 0,13 мкг кг⁻¹ для кадмію з розрахунку 10 мг маси зразка. Результати, отримані для кадмію та свинцю у двох сертифікованих еталонних матеріалах, статистично не відрізнялися від сертифікованих значень на 95 % рівня довіри, що вказує на те, що калібрування за водними стандартами підходить для цього застосування [8].

Також, для визначення залишків свинцю та кадмію у різних зразках харчових продуктів методом атомно-абсорбційної спектроскопії в печі додавали модифікатори матриці у вигляді 50 мкг NH₄H₂PO₄ + 3 мкг Mg (II), як для Pb (II), так і для Cd (II). Сигнали вимірювали як площу піку. Виявлено, що концентрації Pb (II) і Cd (II) у зразках харчових

продуктів знаходяться в діапазоні від 2,67 нг г⁻¹ до 6,63 нг г⁻¹ [9].

Отже, атомно-абсорбційний аналіз – це метод кількісного визначення елементного складу речовини, що досліджується за атомними спектрами поглинання і ґрунтується на здатності атомів вибірково поглинати електромагнітне випромінювання в різних ділянках спектра. Атомно-абсорбційний метод відомий у декількох варіантах: полум'яному, електротермічному та спеціальному (атомізація в тліючому розряді, атомізація гідридів, метод холодного випаровування).

Поміж застосованих методів атомно-абсорбційна спектроскопія з атомізацією в повітряно-ацетиленовому полум'ї використовується в деяких лабораторіях для визначення токсичних елементів, зокрема свинцю і кадмію, проте даний метод має низькі межі виявлення, та чутливий до складних органічних матриць, має низку проблем із накладанням сигналів, шумом та інтерференціями. Натомість, атомно-емісійний метод з індуктивно-зв'язаною плазмою звичайно є точним, однак потребує дороговартісного обладнання. Атомно-абсорбційна спектроскопія із гідридною генерацією характеризується не високою чутливістю та довготривалим процесом аналізу, та підготовкою проб.

Тому, необхідно обрати простий метод із найоптимальнішими характеристиками для швидкого, точного й дешевшого аналізу токсичних елементів у м'ясних продуктах і провести оцінку його придатності.

Мета дослідження – провести валідацію методу визначення свинцю, кадмію, арсену у м'ясі та м'ясопродуктах методом атомно-абсорбційної спектрометрії з електротермічною атомізацією.

Матеріали і методи досліджень. Валідація методу визначення свинцю, кадмію, арсену методом атомно-абсорбційної спектрометрії з електротермічною атомізацією у м'ясі та м'ясопродуктах проводилась згідно вимог Рішення Європейської Комісії № 2002/657/ЄС про імплементацію Директиви Ради 96/23 ЄС щодо застосування аналітичних методів і роз'яснення результатів [10], а також настанови Єврохім [11].

Дослідження проводились у лабораторії атомно-абсорбційної спектрофотометрії науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветсанекспертизи.

Для визначення арсену та кадмію використовували атомно-абсорбційний спектрофотометр Thermo Solaar (США), а для визначення свинцю – атомно-

абсорбційний спектрофотометр Varian 240 G (Австралія).

Для мінералізації зразків і приготування фонових, і калібрувальних розчинів використовували азотну кислоту (Merk, Німеччина), сертифіковані стандартні розчини (Merk, Німеччина) згідно затверджених методів [12–15].

Результати дослідження та їх обговорення. Валідаційний процес визначення свинцю, кадмію та арсену забезпечили дослідженням 230 зразків м'яса різних видів тварин і визначенням 30 зразків сертифікованого референт матеріалу з атестованим вмістом іонів металів (BCR 07315 Liver). Визначались ключові робочі параметри: межа кількісного визначення, межа детектування, збіжність, відтворюваність, точність, лінійність, специфічність та стабільність. Результати проведених робіт оброблялися відповідно прийнятим критеріям (середнє арифметичне, стандартне відхилення, відносне стандартне відхилення).

Основним принципом цього методу для вимірювань масової частки металів у мінералізаті є селективне поглинання електромагнітного випромінювання визначеної частоти (абсорбція) атомами речовини у вільному стані. Це забезпечується способом електротермічної атомізації з нагріванням графітової кювети до

Шуляк С. В., Мягка К. С., Ткачук С. А., Гайдей О. С., Меженська Н. А., Бардик І. Ю.

температури близько 3000 °С. були підібрані оптимальні
Водночас, для кожного з елементів температурні режими (табл. 1).

1 Параметри температурної програми електротермічної атомізації з використанням графітової кювети подовженого строку життя

Елемент	Температура, С°	Час, с	Нагрів С°/с	Потік газу, л/хв	Час програми атомізації
Свинець	115	23,0	15	0,3	79,3
	130	19,0	7	0,3	
	550	5,0	10	0,3	
	550	2,0	-	0,3	
	550	2,0	-	0,0	
	2200	0,8	20	0,0	
	2200	2,0	-	0,0	
	2250	2,0	-	0,3	
Кадмій	100	5,0	10	0,2	79,6
	100	8,0	7	0,2	
	300	10,0	20	0,2	
	850	15,0	50	0,2	
	1700	3,0	-	Вимкн.	
	2500	3,0	-	0,3	
Арсен	110	22,0	50	0,2	79,3
	300	10,0	20	0,2	
	1000	15,0	150	0,2	
	260	3,0	0	Вимкн.	
	2700	3,0	0	0,3	

У подальшому реєстрували досліджуваному металу, величину резонансного поглинання застосовуючи відповідну корекцію випромінювання на аналітичній фону – Дейтерієва лампа й корекція довжині хвилі, що відповідає Зеємана (табл. 2).

2. Умови реєстрації аналітичного сигналу залежно від виду металу

Показники	Свинець	Арсен	Кадмій
	Hollow Cathode Lamp – Pb	Hollow Cathode Lamp – As	Hollow Cathode Lamp – Cd
Сила струму випромінювання, мА	10	12	5,0-10,0
Аналітична довжина хвилі, нм	283,3	193,7	228,8
Характеристична концентрація, мкг/см ³	0,13	0,22	0,013
Концентрація еталонного розчину, мкг/см ³	-	-	0,6
Абсорбція	-	-	0,2
Корекція фону	Дейтерієва лампа	Зеємана	Дейтерієва лампа
Модифікатор	NH ₄ H ₂ PO ₄	Pd(NO ₃) ₂	Pd(NO ₃) ₂

Масову частку металу в мінералізаті розраховували автоматично програмним забезпеченням приладу за градуальною залежністю величини поглинання від масової концентрації металу.

Збіжність (*Repeatability*) визначали багатократним (10–20 раз) вимірюванням відповідного гомогенного зразку з відомим вмістом аналіту в однакових умовах, у результаті чого оцінювали близькість результатів один до одного. Це показник короткотривалих коливань результатів досліджень, критерієм цього показнику є стандартне відхилення паралельних величин.

За вмістом аналітів у зразку, в межах від 0,001 до 0,5 мг/кг, прийнятне значення RSDr становить не більше 20 %. В інших випадках прийнятним вважається значення RSD не більше 5 %.

Відтворюваність (*Reproducibility*) визначалась багаторазовим дослідженням зразків у різних умовах, оскільки це

характеристика якості результатів вимірювання, яка відображає близькість один до одного результатів повторних спостережень в умовах, які відрізняються.

Недостатня стабільність досліджуваної речовини або матричних елементів у зразку впродовж збереження або аналізу, може спричинити істотні відхилення в результатах аналізу, тому визначали стабільність калібрувального стандарту в розчині, та в матриці. Стабільність досліджуваної речовини позитивно характеризується за різних умов збереження. Тому, для її визначення готували основний стандартний розчин аналіту і розчиняли до одержання різних концентрацій (від мінімальної, що відповідає межі детектування). З кожної концентрації відбирали по 40 аліквот, які одразу після приготування досліджували за вмістом аналіту. Розподіляли рівні кількості за відповідними контейнерами, позначали їх, і зберігали в різних умовах (табл. 3).

3. Умови зберігання для визначення стабільності

Концентрація аналіту в розчині, мг/см ³	Загальна кількість аліквот	Умови зберігання: посуд з темного скла		Умови зберігання: посуд зі світлого скла	
		температура зберігання 20 °C (серія А)	температура зберігання +4 °C (серія В)	температура зберігання +20 °C (серія С)	температура зберігання +20 °C (серія D)
С1	40	10	10	10	10
С2	40	10	10	10	10
С3	40	10	10	10	10

Стабільність у матриці визначали за допомогою сертифікованого референт-матеріалу. Такий матеріал гомогенізували, розділяли на 4 аліквоти, додавали до кожної аліквоти аналіт (низькі концентрації стандартного розчину). Одну з аліквот досліджували одразу після приготування у свіжому матеріалі, в інших визначали концентрацію аналіту через 1,2 і 4 тижні.

Точність, правильність (*Accuracy, Truness*) – близькість отриманих результатів до істинного значення, оцінювали за похибкою визначення. Точністю, також, називають кількісну різницю між середнім, з набору результатів або індивідуального результату, і значення, що прийняте, як істинне

або правильне значення для вимірюваної кількості.

Точність (Т, %) визначали за формулою :

$$T = \frac{X_{\partial}}{X_{атест}} \cdot 100$$

де: $X_{атест}$ – атестована концентрація аналіту в референт-матеріалі;

X_{∂} – середнє арифметичне з 6 значень, мг/кг.

Мінімальна точність кількісного методу вираховувалася за вимогами Рішень комісії про імплементацію Директиви Ради 96/23 ЄС щодо застосування аналітичних методів і роз'яснення результатів проводилось за Рішенням Європейської Комісії 2004/657/ЄС (табл. 4).

4. Регламентовані значення точності

Концентрація аналіту	Регламентоване значення
≤ 1 мкг/кг	- 50 % до + 20 %
>1 мкг/кг до 10 мкг/кг	- 30 % до + 10 %
≥ 10 мкг/кг	- 20 % до + 10 %

Специфічність (*Specificity*) або селективність методу визначалась виходячи з того, наскільки він забезпечує недвозначне виявлення та визначення певного аналіту в суміші без взаємного впливу з боку інших компонентів, які можуть очікуватись в матриці (домішки, близько рівні хімічні сполуки, продукти розпаду, інгредієнти плацебо), що усувається застосуванням корекції фону – Дейтерієві лампи і корекція Зеємана.

Проводили визначення специфічності шляхом аналізу зразків у діапазоні від чистих вимірювальних стандартів, забруднених речовинами, що спричиняють потенційний вплив, до сумішей з відомим вмістом, який відповідає складові реального зразку. Випадки серйозного взаємного впливу не зафіксовані.

Важливою характеристикою методу є чутливість (*Sensitivity*). Чим вищою є чутливість, тим краще метод

Шуляк С. В., Мягка К. С., Ткачук С. А., Гайдей О. С., Меженська Н. А., Бардик І. Ю.

дозволяє розрізняти близькі концентрації. Чутливість характеризується характеристичною концентрацією $C_{\text{хар}}$ – це така концентрація досліджуваного елемента, яка дає поглинання рівне 0,0044 одиниць поглинання (1 % абсорбції) за розпилення чи висушування чистих розчинів. В атомно-абсорбційній спектрометрії ця величина залежить від багатьох чинників (можливості електронного

переходу, типу й ефективності атомізації, параметрів обладнання).

Чутливість методу визначали за формулою:

$$C_{\text{хар}} = 0,0044C/A,$$

де: C – концентрація аналіту;

A – поглинання за відповідної концентрації аналіту.

Отримані за цим методом валідаційні дані щодо визначення залишків свинцю, кадмію та арсену наведені в таблиці 5.

5. Валідаційні дані методу

Валідаційні дані	Свинець	Кадмій	Арсен
Збіжність, %	3,2	3,5	4,1
Внутрішньолабораторна відтворюваність, %	8,7	6,9	8,9
Точність, %	96,53	98,84	95,66
Лінійність	лінійний	лінійний	лінійний
Специфічність	специфічний	специфічний	специфічний
Стабільність у матриці	стабільний	стабільний	стабільний
Межа детектування (LOD), мкг/кг	0,31	0,30	0,2
Межа кількісного визначення (LOQ), мкг/кг	5,0	10,0	10,0

Лінійність та робочий діапазон дають змогу більш точно оцінювати отримані результати. Лінійність (*Linearity*) – є здатність показати, що результати тесту є пропорційні концентрації аналіту в зразку у межах даного інтервалу, встановленого для методу. Нахил регресійної лінії та його варіація дає математичну ступінь лінійності. Лінійність оцінювали шляхом візуальної перевірки графіку стандартних вимірних значень.

Робочий діапазон або інтервал (*Working Range*) – оцінювали

перевіркою того, як цей аналітичний метод забезпечує точність, правильність і лінійність за визначення зразків, які вміщують аналіт на границі інтервалу і всередині його. Водночас, визначалась та область, де результати мають прийнятну невизначеність. Нижня межа робочого діапазону визначалася лімітом кількісного визначення, а верхня – точкою, де рівень зміни реакції на одиницю зміни концентрації є недостатнім. Діапазон лінійності може змінюватися, залежно від типу

матриці, і, відповідно, може виникнути необхідність у його перевірці для певних типів зразків.

Межа детектування або межа виявлення аналітичного методу (*Limit of detection, LOD*) аналіту – це мінімальна концентрація аналіту в зразку, що може бути виявлена зі статистичною впевненістю. Вона визначалась за допомогою повторного аналізу 20 зразків холостої (нульової) проби.

Межа детектування статистично визначалась, як деякий множник, рівний подвоєному (двухсигмовий критерій) або потроєному (трьохсигмовий критерій) стандартному відхиленню. Ця кількість чисельно дорівнює подвоєній величині стандартного відхилення $2S_0$.

Для оцінювання межі кількісного визначення LOQ (*Limit of Quantitation*) (найнижчий рівень вмісту аналіту в матричній пробі) проводили 10 кратне аналізування тестових проб із низькою концентрацією аналіту. LOQ обчислювали як концентрацію аналіту, що дорівнює отриманому стандартному відхиленню (s_0') на низьких рівнях концентрації, помноженому на певний коефіцієнт k . Іноді застосовують множники 5 чи 6, тоді значення RSD становлять відповідно 20 і 17 %.

Згідно Регламенту Ради ЄС 2007/333/ЄС [15] межа кількісного визначення для атомно-абсорбційних

спектрометричних методів не має перевищувати одну п'яту, а для свинцю дві п'ятих максимального рівня, зазначеного в Регламенті Ради ЄС 2006/1881/ЄС [13].

Максимальні рівні вмісту важких металів у м'ясі та м'ясній сировині в Україні регламентується Наказом МОЗ № 1238 від 22.05.2020 року «Про внесення змін до Державних гігієнічних правил і норм. Регламент максимальних рівнів окремих забруднювачів у харчових продуктах». Тому, важливим критерієм є значення межі кількісного визначення методу для вірної інтерпретації й достовірності результатів аналізу.

Отже, результати, отримані під час валідації методу, знаходяться у допустимих межах згідно Рішення комісії ЄС 657/2002 [12], що дозволяє застосувати його згідно призначення та отримувати дані високої точності [4,5].

Висновки і перспективи

1. Встановлені валідаційні характеристики методу визначення свинцю, кадмію, арсену атомно-абсорбційною спектрометрією з електротермічною атомізацією, а саме: межа детектування, межа кількісного визначення, точність, правильність, збіжність, відтворюваність, селективність та лінійність.

2. Доведено точність, практичність та універсальність цього методу, що підтверджується

Шуляк С. В., Мягка К. С., Ткачук С. А., Гайдей О. С., Меженська Н. А., Бардик І. Ю.

показниками LOD і LOQ: для свинцю 0,31 і 10,0 мкг/кг, кадмію 0,3 і 5,0 мкг/кг, арсену 0,2 і 10,0 мкг/кг.

3. Отримані результати та валідаційні дані щодо точності та відтворюваності є відповідними вимогам Європейського законодавства щодо залишкового

Список використаних джерел

1. Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B. V., Beeregowda K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*. Vol. 7. P. 60–72. doi: 10.2478/intox-2014-0009

2. Naseri. K., Salmani F., Zeinali M., Zeinali T. (2021). Health risk assessment of Cd, Cr, Cu, Ni and Pb in the muscle, liver and gizzard of hen's marketed in East of Iran. *Toxicology Repost*. Vol. 8. P. 53–59. doi: 10.1016/j.toxrep.2020.12.012

3. Njoga E. O., Ezenduka E. V., Ogbodo C. G., Ogbonna C. U., Jaja I. F., Ofomatah A. C., Okpala C. O. R. (2021). Detection, distribution and health risk assessment of toxic heavy metals/metalloids, Arsenic, Cadmium, and Lead in goat carcasses processed for human consumption in south-eastern Nigeria. *Foods*. Vol. 10, No. 4. P. 781–798. doi:10.3390/foods10040798

4. Paska M., Simonova I., Galuch B., Basara, I., Masliichuk O. (2017). Toxic elements in lentil, thyme and juniper in the composition of semi-smoked sausages using the method of atomic-absorbtion spectrometry with atomization in flume. *Eureca: Life Sciences*. Vol. 4, No. P. 35–42. doi:10.21303/2504-5695.2017.00388

5. Abedi A., Zabihzadeh M., Hosseini H., Eskandari S., Ferdowsi R. (2018). Determination of Lead, Cadmium, Iron and Zinc contents in the meat products supplied in Tehran. *Iranian Journal Nutrition Sciences Food Technology*. Vol. 13, No. 3. P. 93–102. URL: <http://nsft.sbmu.ac.ir/article-1-2585-en.html>

6. Chowdhury Z. M. A., Siddiquea Z. A., Hossain S. M. A., Kazi A. I., Ahsan A. A., Ahmed S., Zaman M. M. (2011). Determination of essential and toxic metals in meats, meat

вмісту важких металів у м'ясі та м'ясопродуктах.

У перспективі плануємо виконати ряд валідаційних досліджень щодо визначення залишкових кількостей антибіотиках у м'ясі та м'ясопродуктах згідно плану державного моніторингу.

products and eggs by spectrophotometric method. *Journal of Bangladesh Chemical Society*. Vol. 24, No. 2. P. 165–172. doi: 10.3329/jbcs.v24i2.9705

7. Maky M. A., Abd-ElRasoul M. A. A., Salah M. (2020). Evaluation of some food additives and heavy metals in Egyptian meat products. *International Journal One Health*. Vol. 6, No. 1. P. 61–68. doi: 10.14202/IJOH.2020.61-68

8. Damin C. F., Zmozinski A. V., Borges A., Vale M. G. R. (2011). Determination of cadmium and lead in fresh meat by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Analytical Methods*, Vol. 36, No. 2 : 1379. doi:10.1039/c1ay05085k

9. Oymak T., Tokaloğlu Ş., Yılmaz V., Kartal Ş., Aydın D. (2009). Determination of lead and cadmium in food samples by the coprecipitation method. *Food Chemistry*. Vol. 113, No. 4. P. 1314–1317. doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.064

10. Сировина і продукти харчові. Готування проб. Мінералізація для визначання вмісту токсичних елементів [Текст]. Чинний від 2015-07-01. Київ : Мінекономрозвитку України, 2015. IV, 14 с. (Національний стандарт України)

11. Настанова Eurachem "Придатність аналітичних методів для конкретного застосування. Настанова для лабораторій з валідації методів та суміжних питань": за ред. Б. Магнуссона та У. Ернемарка: переклад другого видання. 2014 р. К.: ТОВ "Юрка Любченка", 2016. 92 с.

12. Commission Decision 657/2002 on the implementation of Council Directive 96/23 on the application of methods of analysis and interpretation of results. *Official Journal of the European Communities*. 2002. 32 p.

13. Council Regulation 2006/1881 / EU. On establishing the maximum level of certain contaminants in food. *Official Journal of the European Communities*. 2008. 24 p.

14. Council Regulation 2001/466 / EC. About establishment of the maximum levels of certain harmful substances in foodstuff. *CONSLEG: 2001R0466 – 05/05/2004 OB. L 77*. 2001. 24 p.

15. Council Regulation 2007/333 / EU. Approving sampling methods and methods of analysis for the official control of levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, C-MCPD and benzo (a) pyrene in foodstuffs. 29.3.2007. *Official Journal of the European Union. L 88/29*. 10 p.

References

1. Jaishankar, M., Tseten, T. Anbalagan, N. Mathew, B. B. Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7, P. 60–72 doi: 10.2478/intox-2014-0009

2. Naseri, K. Salmani, F. Zeinali, M. Zeinali, T. (2021). Health risk assessment of Cd, Cr, Cu, Ni and Pb in the muscle, liver and gizzard of hen's marketed in East of Iran. *Toxicology Repost*, 8, 53–59. doi: 10.1016/j.toxrep.2020.12.012

3. Njoga E. O., Ezenduka E. V., Ogbodo C. G., Ogbonna C. U., Jaja I. F., Ofomatah A. C., Okpala C. O. R. (2021). Detection, distribution and health risk assessment of toxic heavy metals/metalloids, Arsenic, Cadmium, and Lead in goat carcasses processed for human consumption in south-eastern Nigeria. *Foods*. Vol. 10, No. 4. P. 781–798. doi:10.3390/foods10040798

4. Paska, M., Simonova, I., Galuch, B., Basarab, I., Masliichuk, O. (2017). Toxic elements in lentil, thyme and juniper in the composition of semi-smoked sausages using the method of atomic-absorbtion spectrometry with atomization in flame. *Eureca: Life Sciences*, 4, 35–42. doi:10.21303/2504-5695.2017.00388.

5. Abedi, A., Zabihzadeh, M., Hosseini, H., Eskandari, S., Ferdowsi, R. (2018). Determination of Lead, Cadmium, Iron and Zinc contents in the meat products supplied in Tehran. *Iranian Journal Nutrition Sciences*

Food Technology, 13 (3), 93–102. URL: <http://nsft.sbmu.ac.ir/article-1-2585-en.html>

6. Chowdhury, Z. M. A., Siddiquea, Z. A., Hossain, S. M. A., Kazi, A. I., Ahsan, A. A., Ahmed, S., Zaman, M. M. (2011). Determination of essential and toxic metals in meats, meat products and eggs by spectrophotometric method. *Journal of Bangladesh Chemical Society*, 24, 2, 165–172. doi: 10.3329/jbcs.v24i2.9705

7. Maky, M. A., Abd-ElRasoul, M.A.A., Salah, M. (2020). Evaluation of some food additives and heavy metals in Egyptian meat products. *International Journal One Health*, 6(1), 61–68. doi: 10.14202/IJOH.2020.61-68

8. Damin, C. F., Zmozinski, A. V., Borges, A., Vale, M. G. R. (2011). Determination of cadmium and lead in fresh meat by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Analytical Methods*, 36, 2 : 1379. doi:10.1039/c1ay05085k

9. Oymak, T., Tokaloğlu, Ş., Yılmaz, V., Kartal, Ş., Aydın, D. (2009). Determination of lead and cadmium in food samples by the coprecipitation method. *Food Chemistry*, 113, 4, 1314–1317. doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.064

10. DSTU 7670:2014 Syrovyna i produkty kharchovi. Pryhotuvannia prob. Mineralizatsiia dlia vyznachennia vmistu toksychnykh elementiv [Raw materials and food products. Sample preparation. Mineralization to determine the content of toxic elements [Text]. Kyiv: State Consumer Standard] (in Ukrainian)

11. Nastanova Eurachem "Prydatnist analitychnykh metodiv dlia konkretnoho zastosuvannia. Nastanova dlia laboratorii z validatsii metodiv ta sumizhnykh pytan" [Eurachem Guide: The Fitness for purpose of analytical methods. Laboratory guide to method validation and related] : za red. B. Mahnussona ta U. Ernemarka: pereklad druhoho vydannia. 2014 r. K.: TOV "Iurka Liubchenka", 2016. 92 s.

12. Commission Decision 657/2002 on the implementation of Council Directive 96/23 on the application of methods of analysis and interpretation of results. *Official Journal of the European Communities*. 2002. 32 p

Шуляк С. В., Мягкая К. С., Ткачук С. А., Гайдей О. С., Меженська Н. А., Бардик І. Ю.

13. Council Regulation 2006/1881 / EU. On establishing the maximum level of certain contaminants in food. Official Journal of the European Communities, 2008, 24 p.

14. Council Regulation 2001/466 / EC. About establishment of the maximum levels of certain harmful substances in foodstuff. CONSLEG: 2001R0466 — 05/05/2004 OB, L 77, 2001, 24 p.

15. Council Regulation 2007/333 / EU. Approving sampling methods and methods of analysis for the official control of levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, C-MCPD and benzo (a) pyrene in foodstuffs. 29.3.2007. Official Journal of the European Union, L 88/29, 10 p.

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВИНЦА, КАДМИЯ, АРСЕНА В МЯСЕ И МЯСОПРОДУКТАХ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИЕЙ С ЭЛЕКТРОТЕРМИЧЕСКОЙ АТОМИЗАЦИЕЙ **С. В. Шуляк, К. С. Мягкая, С. А. Ткачук, О. С. Гайдей, Н. А. Меженская, И. Ю. Бардик**

***Аннотация.** Токсичность тяжелых металлов создает появление рисков для здоровья, как человека, так и животных, исходя из их способности к накоплению в организме. Токсичность металла зависит от поглощенной дозы, пути и длительности воздействия. Своевременное определение тяжелых металлов в пищевых продуктах, в соответствии с утвержденными в ЕС методами оценки, является актуальной задачей.*

Целью исследования было провести валидацию метода определения свинца, кадмия и мышьяка в мясе и мясопродуктах методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией.

Для определения мышьяка и кадмия использовали атомно-абсорбционной спектрофотометр Thermo Solaar (США), для определения свинца атомно-абсорбционной спектрофотометр Varian 240 G (Австралия).

Для минерализации образцов и приготовления фоновых и калибровочных растворов использовали азотную кислоту (Merk, Германия), сертифицированные стандартные растворы (Merk, Германия) согласно утвержденным методам.

В ходе исследования установлены валидационные характеристики метода определения свинца, кадмия и мышьяка атомно-абсорбционной спектроскопией с электротермической атомизацией, а именно: предел детектирования, предел количественного определения, точность, правильность, сходимость, воспроизводимость, селективность и линейность.

Доказано точность, практичность и универсальность этого метода, что подтверждается показателями LOD и LOQ: для свинца 0,31 и 10,0 мкг / кг, кадмия 0,3 и 5,0 мкг / кг, мышьяка 0,2 и 10,0 мкг / кг.

Полученные результаты и валидационные данные по точности и воспроизводимости соответствуют требованиям Европейского законодательства по остаточному содержанию тяжелых металлов в мясе и мясопродуктах.

***Ключевые слова:** валидация метода, атомно-абсорбционная спектроскопия, металлы, мясо и мясопродукты*

VALIDATION OF THE METHOD FOR DETERMINATION OF LEAD, CADMIUM, ARSENE IN MEAT AND MEAT PRODUCTS ATOMIC-ABSORPTION SPECTROMETRY WITH ELECTROTHERMAL ATOM

S. V. Shulyak, K. S. Myagka, S. A. Tkachuk, O. S. Gaiduy,
N. A. Mezhenkaya, I. Yu. Bardik

Abstract. *The toxicity of heavy metals poses risks to the health of both humans and animals based on their ability to accumulate in the body. The toxicity of the metal depends on the absorbed dose, route and duration of exposure. The timely determination of heavy metals in food, in accordance with EU-approved assessment methods, is an urgent task.*

The aim of the study was to validate the method of determination of lead, cadmium, arsenic in meat and meat products by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization.

The Thermo Solaar atomic absorption spectrophotometer (USA) was used to determine arsenic and cadmium, and the Varian 240 G atomic absorption spectrophotometer (Australia) was used to determine lead.

Nitric acid (Merk, Germany), certified standard solutions (Merk, Germany) according to the approved methods were used for mineralization of samples and preparation of background, calibration solutions.

The validation characteristics of the method for determining lead, cadmium, arsenic by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization, namely: detection limit, quantitative limit, accuracy, correctness, convergence, reproducibility, selectivity, linearity.

The accuracy, practicality and versatility of this method have been proven, which is confirmed by LOD and LOQ: for lead 0.31, 10.0 $\mu\text{g} / \text{kg}$, cadmium 0.3 and 5.0 $\mu\text{g} / \text{kg}$, arsenic 0.2 and 10.0 $\mu\text{g} / \text{kg}$.

The results obtained and the validation data on accuracy and reproducibility are in line with the requirements of European legislation on the residual content of heavy metals in meat and meat products.

Key words: *method validation, atomic absorption spectrometry, metals, meat and meat products*