

Sample Preparation of Urine Samples for Voltamperometric Determination of Medicinal Substances and Evaluation of the Method from the Viewpoint of Environmentally

O.M. Dushna^{†,*}, M.S. Novozhylova^{†,§}, L.O. Dubenska^{†,**}

[†] Faculty of Chemistry, Ivan Franko National University of Lviv, Kyryla i Mefodiya 6, 79005 Lviv, Ukraine; *e-mail: olha.dushna@lnu.edu.ua; **e-mail: liliya.dubenska@lnu.edu.ua

[‡] Biological and Chemical Research Centre, Faculty of Chemistry, University of Warsaw, Żwirki i Wigury 101, 02–093 Warsaw, Poland

[§] Halychfarm OJSC, Opryshkivska 6-8, 79024 Lviv, Ukraine

Received: August 27, 2023; Accepted: February 19, 2024

DOI: 10.17721/moca.2024.80-93

This work discusses the primary methods of preparing urine samples for voltammetric analysis. To serve as model analytes, well-known and commonly used medicinal substances were employed. These substances exhibit distinct pharmacological effects and undergo varying transformations at the electrodes under voltammetry conditions. The selected model analytes encompass two alkaloids of plant origin – quinine and platyphylline, the platyphylline metabolite – its N-oxide, and the synthetic antibacterial drug sulfadimethoxine. The determination of model analytes in prepared samples of urine was carried out using a boron-doped diamond electrode and a dropping mercury electrode. The action of ultrasound on the urine sample turned out to be the optimal method of sample preparation, which allows you to liquid or other types of extraction and significant dilution of sample urine. Furthermore, the environmental aspects of voltammetric analysis for medicinal substance determination in urine, exemplified by quinine, were assessed. Various approaches, such as AGREEprep, AGREE metrics, Green Certificate, and Blue Applicability Grade Index (BAGI), were employed to evaluate environmental considerations. All these assessments yielded high ratings, indicating compliance with the principles of green analytical chemistry for the voltammetric technique in quinine determination in urine.

Keywords: sample preparation, urine, medicinal substances, voltammetric analysis, green analytical chemistry

Підготовка проб сечі для вольтамперометричного визначення лікарських речовин та оцінювання методики з погляду екологічності

O.M. Душна^{†,*}, М.С. Новожилова^{†,§}, Л.О. Дубенська^{†,**}

[†] Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Кирила і Мефодія, 6, 79005 Львів, Україна; *e-mail: olha.dushna@lnu.edu.ua, **e-mail: liliya.dubenska@lnu.edu.ua

[‡] Центр біологічних та хімічних досліджень, Варшавський університет, вул. Жвірки і Вігури, 101, 02–089 Варшава, Польща

[§] АТ "Галичфарм", вулиця Опришківська, 6, 79000 Львів, Україна;

Надійшла: 27 серпня 2023 р.; Прийнята: 19 лютого 2024 р

DOI: 10.17721/moca.2024.80-93

У цій роботі розглянуто основні способи пробопідготовки сечі з метою застосування у вольтамперометричному аналізі. Як модельні аналіти використали давно відомі і поширені лікарські речовини, які виявляють різну фармакологічну дію та по-різному перетворюються на електродах в умовах вольтамперометрії: два алкалоїди рослинного походження – хінін та платифілін, метаболіт платифіліну – його N-оксид, та синтетичний антибактеріальний препарат сульфадиметоксин. Визначення у підготовлених пробах виконували з використанням алмазного електрода, легованого бором та ртутного краплинного електрода. Дія ультразвуку на зразок сечі виявилась оптимальним способом пробопідготовки, який дає змогу уникнути рідинної чи інших видів екстракції та великого розбавлення зразка. Крім того, на прикладі визначення хініну оцінено використання вольтамперометричного аналізу для визначення лікарських речовин в сечі з точки зору екологічності методики. Для цього використано методи (калькулятори) AGREEprep, AGREE metrics, Green Certificate та Blue Applicability Grade Index. Згідно з усіма використаними підходами вольтамперометрична методика визначення хініну у сечі отримала високі оцінки, які засвідчують дотримання принципів зеленої аналітичної хімії.

Ключові слова: пробопідготовка, сеча, лікарські речовини, вольтамперометричний аналіз, зелена аналітична хімія

Вступ

Аналіз біологічних рідин на вміст залишків лікарських речовин, метаболітів, допінгу, токсинів та інших фізіологічно активних речовин є актуальним завданням сучасної аналітичної хімії. Біологічні зразки – порівняно складні матриці, що містять багато білків, ліпідів та інших речовин, які впливають на особливості виділення і визначення аналітів. Крім того, концентрація аналітів може бути значно нижчою, порівняно з концентрацією сторонніх речовин. Тому підготовка зразка – ключовий етап перед визначенням. Загальновідомо, що пробопідготовка – найтриваліший етап аналізу складних зразків, який водночас визначає аналітичні, економічні й екологічні характеристики методики. Екологічність методів аналізу та окремих методик набула в останні роки особливої значущості [1–4].

Сеча як зразок для аналізу має свої переваги порівняно з іншими біологічними рідинками: містить меншу кількість білків, ліпідів та інших високомолекулярних сполук, тому потребує менш складної пробопідготовки [5]. Підбір проб неінвазивний, проби можна відібрати порівняно велику кількість. У пробопідготовці сечі зазвичай використовують розбавлення, фільтрування, центрифугування, а також різні методи відокремлення, ізолювання та очищення.

Розбавлення вважають одним із необхідних етапів попередньої підготовки біологічних рідин для аналізу інструментальними методами. Ефективність розбавлення залежить від обраних розчинників, наприклад, у хроматографічному аналізі як розчинник часто використовують рухому фазу [6]. Однак, негативного впливу забруднюючих речовин, небажаних компонентів неможливо уникнути простим розбавленням, це головний недолік такого способу пробопідготовки.

Центрифугування та фільтрування найчастіше використовують під час аналізу сечі. Ці способи пробопідготовки часто поєднують з процедурою осадження білків. Використовують здебільшого паперові фільтри різної пористості (ультра-, мікро- та нанофільтри). Центрифугувати зразки сечі рекомендують за швидкості 1000–3000 об/хв впродовж 5 хв – в результаті такі компоненти як білки, ліпіди осідають [7]. Використовують також різновиди екстракції: рідинну, твердофазну, дисперсійну рідинно-рідинну мікроекстракцію, мікроекстракцію затверділої плаваючої органічної краплі тощо [8–11].

Сучасні методи вольтамперометричного аналізу (ВА) повністю задовольняють потреби селективності, чутливості, надійності та низькі межі визначення C_{lim} (10^{-5} – 10^{-6} М), які необхідні в клінічному й фармацевтичному аналізі. Для зниження C_{lim} до 10^{-7} – 10^{-8} М використовують, здебільшого, квадратно-хвильову (КХВ) і диференціальну імпульсну (ДІВ) вольтамперо-

метрію, а також різні інверсійні варіанти, які дають змогу концентрувати аналіти безпосередньо на поверхні робочого електрода. Методи ВА доцільно використовувати для дослідження механізму відновлення–окиснення, стабільності, здатності адсорбуватися, кінетики гідролізу лікарських речовин тощо [12,13]. Крім того, ВА відповідає вимогам енергоефективності та мініюаризації, визначення здебільшого не потребує органічних розчинників, а токсичні лабораторні відходи зазвичай не утворюються, тобто ВА відповідає головним принципам зеленої аналітичної хімії [1].

Для вольтамперометричного аналізу сечу зазвичай розбавляють фоновим електролітом, причому інтервал розбавлення широкий: від 1:5 до 1:500 [14–26]. Це роблять для того, щоб уникнути впливу одного з головних компонентів сечі – сечової кислоти, яка легко окиснюється на електродах у межах тих самих потенціалів, що й багато аналітів. Це найпростіший і найшвидший спосіб підготовки проб. Проте під час розбавлення одночасно зменшується корисний аналітичний сигнал. Це обмежує використання такого способу підготовки проб для визначення аналітів, уміст яких у сечі низький. У разі великої кількості білка у пробі у ВА використовують поєднання осадження з подальшим центрифугуванням [27, 28]. Ефективним способом підготовки проб колоїдних розчинів є дія ультразвуку [29].

В оглядових працях [30–32] підсумовано методи до вольтамперометричного визначення лікарських речовин, зокрема сульфоамідів, фармакологічних медіаторів у біологічних рідинах. Визначення аміноцикліну електрохімічними методами в біологічних рідинах та інших матрицях описано в [33]. У таблиці 1 наведено коротку характеристику вольтамперометричних методик визначення деяких речовин у зразках сечі.

Отже, пробопідготовка сечі для вольтамперометричного визначення лікарських речовин є актуальним завданням. Для дослідження обрали модельні речовини, які є відомими і давно використовуваними лікарськими речовинами, виявляють різну біологічну дію та по-різному перетворюються на електродах в умовах вольтамперометрії: для алкалоїди рослинного походження – хінінін (ХН) і платифілін (ПЛАТ), а також синтетичний антибактеріальний препарат сульфадиметоксин (СДМ), який є представником сульфаніламідних препаратів (СП).

Про фізіологічну дію, використання та методи визначення ХН і ПЛАТ ми детально повідомляли у [20,34], відповідно. СДМ широко застосовують для лікування багатьох інфекцій, зокрема інфекції дихальних і сечовивідних шляхів, кишківника та м'яких тканин [35,36]. Крім того, СДМ активно використовують у ветеринарії для профілактики та лікування захворювань тварин, спричинених бактеріальною інфекцією [37]. Як наслідок,

Таблиця 1. Коротка характеристика способів підготовки зразків сечі для визначення деяких пікарських речовин методами ВА.

Речовина	Спосіб пробопідготовки	Електрод	Метод ВА	Межа виявлення, мкМ	Л-ра
Морфін	Розбавлення 1:5	EGO/SPE	ДІВ	2.5 ppb	14
Нефопам	Розбавлення 1:100	АДБЕ	ДІВ	1.7	15
			КХВ	1.8	
	Розбавлення 1:100	АДБЕ	ДІВ	0.56	16
			КХВ	0.59	
Атропін	Центрифугування, фільтрування та розбавлення	GSH(f)-Co ₃ O ₄ /GCE	ДІВ	0.001	17
Теофілін	Розбавлення 1:2500	АДБЕ	ДІВ	0.91	18
			КХВ	1.45	
Нікотин	Розбавлення 1:100	GO/Nq/GCE	ДІВ	0.00127	19
			ДІВ	0.22	
	Розбавлення 1:25	АДБЕ	КХВ	0.18	20
			ДІВ	0.18	
Хінін	Дія ультразвуку		КХВ	0.17	
	Фільтрування та розбавлення 1:10	p-(AHNSA)/GCE	КХВ	0.0142	
Ефедрин	Фільтрування, розбавлення 1:100	MWCNTs/GCE	ЦВА	0.75	22
Псевдо-ефедрин				0.82	
N-оксид нікотину	Розбавлення 1:25	р.к.е.	ВАЛШ	1.78	23
N-оксид нефопаму	Розбавлення 1:25	р.к.е.	ВАЛШ	0.62	24
Бензокаїн	Розбавлення 1:10	АДБЕ	ДІВ	80 нМ	25
			КХВ	100 нМ	
Густамін	Фільтрування, розбавлення 1:20	lignin modified GCE	ЦВА	0.28	26

Умовні позначення до таблиці 1. Методи вольтамперометрії: ДІВ – диференціальна імпульсна; КХВ – квадратно-хвильова; ЦВА – циклічна; ВАЛШ – з лінійною швидкою розгорткою потенціалу. Індикаторні електроди: SPE-ECO – трафаретний друкований, модифікований електрохімічно відшарованим оксидом графену; АДБЕ – алмазний, допований бором; GSH(f)-Co₃O₄/GCE – скловугільний, модифікований наноструктурами Co₃O₄, вирощеними з використанням глутатіону; GO/Nq/GCE – скловугільний, модифікований 1,2-нафтохінон-4-сульфою (Nq) та декорований наноконструктом оксиду графену (GO); p-(AHNSA)/GCE – скловугільний, модифікований електрополімеризованою 4-аміно-3-гідроксипропілсульфою; MWCNTs/GCE – скловугільний, модифікований багатостіковими вуглецевими нанотрубками (MWCNT); р.к.е. – ртутний краплинний; lignin modified GCE – скловугільний, модифікований лігніном.

залишки СДМ було виявлено не тільки в продуктах харчування тваринного походження, а й у пробах водив навколишньому середовищі, що шкідливо для організму людини та призводить до резистентності до інших типів протимікробних засобів [38–41]. Тому цей СДМ контролюють на рівні залишкових кількостей у продуктах харчування [38] та у воді [40], серед методів аналізу використовують також вольтамперометрію [42–44].

Метою цієї роботи є дослідження способів пробопідготовки сечі для вольтамперометричного визначення хініну, платифіліну та сульфодиметоксину на робочих електродах різної природи з погляду аналітичних характеристик та екологічності.

Методи дослідження матеріалів

Для вольтамперометричних досліджень використовували цифрові прилади MTech OVA-410 та POL-20 (MTech, Львів, Україна) [45]. Прилад MTech OVA-410 працює в режимі циклічної вольтамперометрії (ЦВА) та вольтамперометрії з лінійною швидкою розгорткою потенціалу (ВАЛШ). MTech OVA-410 застосовували разом з триелектродною електролітичною коміркою з робочим ртутним краплинним електродом (р.к.е.), насиченим каломелевим електродом порівняння (н.к.е.) і платиновим допоміжним електродом. Характеристики р.к.е.: $m = 5.9 \cdot 10^{-4}$ г/с, $\tau_c = 10$ с у 0.2 М розчині NH₄Cl без накладання напруги поляризації.

Якщо не вказано іншого, то полярограми отримано із швидкістю сканування $V = 0.5$ В/с.

Прилад POL-20 дає змогу використовувати методи диференціальної імпульсної (ДІВ) і квадратно-хвильової (КХВ) вольтамперометрії. Разом з POL-20 використовували триелектродну планарну комірку з робочим алмазним допованим бором електродом (АДБЕ), графітовим допоміжним електродом і аргентумхлоридним електродом порівняння. Характеристики комірки детально описано в роботі [45]. Інструментальні параметри для ДІВ: амплітуда імпульсу – 70 мВ, тривалість імпульсу – 50 мс, крок імпульсу – 5 мВ.

Підготовка поверхні АДБЕ. На початку кожного робочого дня поверхню планарної комірки промивали двічі дистильованою водою, занурювали у 0.5 М розчин H_2SO_4 та накладали потенціал спочатку +2.0 В, а потім –2.0 В протягом 120 с кожен.

Під час дослідження процесів відновлення (за від'ємних потенціалів робочого електрода) розчинений кисень з електролітичної комірки видаляли пропусканням через розчин азоту протягом 10 хв очищеного аргону. Реєстрація струму окиснення не потребує попереднього видалення розчиненого кисню.

Значення рН розчинів вимірювали потенціометрично рН-метром рН-150 МІ з комбінованим скляним електродом.

Для підготовки проб використовували ультразвуковий диспергатор Elmasonic S 120 (Німеччина), центрифугу Thermo Scientific Multifuge 1S Centrifuge (США), водяний грівник MLW (Німеччина).

Параметри лінійних залежностей обчислювали методом найменших квадратів, використовували програму OriginPro. Так отримували метрологічні параметри методик. $C_{\min}$ та $C_{\lim}$ обчислювали, відповідно, як $3.3S_a/b$ і $10S_a/b$, де S_a – стандартне відхилення параметра a у рівнянні прямої лінійної залежності I , мкА від C , моль/л; b – кутовий коефіцієнт цієї залежності [46].

У роботі використовували реактиви натрій гідроксид, хлоридну, ортофосфатну, ацетатну, борну кислоти кваліфікації “чда” та ацетонітрил “для хроматографії”, всі придбано в Україні.

Для приготування водних розчинів використовували двічі дистильовану воду.

Характеристику використаних модельних лікарських речовин (субстанцій) подано у табл. 2.

Для приготування робочих розчинів стандартних зразків (РСЗ) з концентрацією $1.0 \cdot 10^{-3}$ моль/л точну наважку субстанції модельного аналіта кількісно розчиняли у двічі дистильованій воді у мірній колбі місткістю 25.00 або 50.00 мл за кімнатної температури. РСЗ зберігали у холодильнику кілька днів, але не довше, ніж один тиждень.

Розчин універсальної буферної суміші (УБС) готували за [47].

Також у роботі використовували стандартні розчини N-оксиду ПЛАТ і деривату СДМ, які отримували безпосередньо перед використанням, окисненням реагентом Оксоном. Оксон – це комерційна потрійна сіль кислоти Капо – $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ (ACROS ORGANICS, “extra pure”, CAS 70693-62-8). Активним компонентом-окисником є калій гідрогенпероксимоносультат (KHSO_5). Готували розчин окисника з концентрацією $1.0 \cdot 10^{-2}$ моль/л. Для цього наважку Оксону (теоретична наважка становить 0.6148 г) розчиняли в мірній колбі місткістю 100.0 мл у двічі дистильованій воді.

Отримання розчину N-оксиду ПЛАТ. У хімічну скляну склянку послідовно вносили 4.0 мл УБС з рН 8.4; аліквоту РСЗ ПЛАТ для одержання заданої концентрації і 0.25 мл $1.0 \cdot 10^{-2}$ М розчину Оксону. Суміш ретельно перемішували, витримували 15 хв при кімнатній температурі, далі додавали хлоридної кислоти до рН 5.1 (контролювали рН-метром), щоб зупинити процес окиснення. Потім цей розчин кількісно переносили у мірну колбу місткістю 25.0 мл і доводили до позначки двічі дистильованою водою [34].

Отримання розчину деривату СДМ. У хімічну скляну склянку послідовно вносили 4.0 мл УБС з рН 8.4; аліквоту РСЗ СДМ для одержання заданої концентрації і 0.25 мл $1.0 \cdot 10^{-2}$ М розчину Оксону. Після перемішування витримували 15 хв у водяному грівнику за температури 50 °С, потім розчином HCl зменшували рН до 5.1 (контролювали рН-метром), кількісно переносили у мірну колбу на 25.0 мл і доводили до позначки двічі дистильованою водою.

Таблиця 2. Характеристика субстанцій лікарських речовин, які використані в роботі

Речовина (скорочення)	CAS №	Виробник	Вміст основної речовини згідно з сертифікатом якості виробника, %
Платифілін (ПЛАТ)	480-78-4	JSC Batfarma, Грузія	98.5
Хінін (ХН)	6119-47-7	Sigma-Aldrich, США	≥ 99.0
Сульфадиметоксин (СДМ)	122-11-2	Zhejiang Jiuzhou Pharmaceutical Co., Ltd, Китай	98.9

Приготування і процедура аналізу зразків сечі

Зразки сечі людей, які не вживали ПЛАТ, ХН, СДМ для лікування, брали в здорових добровольців (жінки, 22 і 25 років) натще в день експерименту. Під час експериментів і за кілька днів до цього волонтери не проходили жодного лікування лікарськими чи мультивітамінними препаратами.

У відміряний об'єм необробленої сечі людини вводили мікропіпетою аликвоту стандартного розчину модельної речовини, щоб досягти певної (заданої) концентрації, ретельно перемішували. Далі відбирали аликвоту сечі, піддавали пробопідготовці одним з способів, які перелічено далі (п.3.1). Потім до цього підготовленого зразка додавали 5 мл УБС із заданим рН для кожної модельної речовини (як фоновий електроліт) та кількісно переносили у колбу місткістю 25.0 мл, доводили до позначки двічі дистильованою водою. Щоб досягнути певного об'ємного співвідношення для різного розбавлення, відбирали різні аликвоти сечі. Далі розчин переносили до електролітичної комірки. Якщо реєстрували струм відновлення, то видаляли розчинений кисень протягом 10 хвилин. Потім отримували вольтамперограми у заданому діапазоні потенціалів.

Результати досліджень та їх обговорення**Вибір оптимального способу підготовки зразків сечі для вольтамперометричного аналізу**

Раніше ми повідомляли про вольтамперометричне визначення ХН з використанням АДБЕ у сечі та про різні способи пробопідготовки сечі для цієї мети [20]. На поверхні АДБЕ ХН легко відновлюється та окиснюється в широких межах рН. Ми з'ясували, що визначення ХН за струмом відновлення є селективнішим, ніж за струмом окиснення, особливо щодо одного з головних компонентів сечі – сечової кислоти [20]. Також

відомо, що ХН легко відновлюється в широких межах рН на поверхні р.к.е. [48]. Тому ми порівнювали ефективність різних способів пробопідготовки сечі, про які повідомляли у [20], для визначення ХН з використанням р.к.е. й АДБЕ. Застосували такі способи підготовки проб (рис. 1):

- 1 – розбавлення зразків сечі фоновим електролітом у співвідношенні 1:25;
- 2 – фільтрування через паперовий фільтр «синя стрічка»;
- 3 – фільтрування через мембранний фільтр з діаметром пор 0.45 мкм;
- 4 – фільтрування через мембранний фільтр з діаметром пор 0.22 мкм;
- 5 – центрифугування;
- 6 – центрифугування з подальшим фільтруванням через фільтр «синя стрічка»;
- 7 – центрифугування з подальшим фільтруванням через мембранний фільтр з діаметром пор 0.45 мкм;
- 8 – центрифугування з подальшим фільтруванням через мембранний фільтр з діаметром пор 0.22 мкм;
- 9 – осадження білків та інших компонентів сечі ацетонітрилом з подальшим центрифугуванням;
- 10 – дія ультразвуку на зразки сечі людини.

На рис. 1а показано вигляд полярограм, а на рис. 1б подано залежність струму відновлення ХН на р.к.е. та АДБЕ за різних способів пробопідготовки

сечі. Загалом спосіб пробопідготовки сечі суттєво впливає на аналітичний сигнал відновлення ХН (рис.1а). Найефективнішими способами пробопідготовки, які дають змогу отримати чіткий пік та найвищий струм є розбавлення зразків сечі фоновим електролітом (спосіб 1), центрифугування (спосіб 5), осадження білків та інших компонентів сечі ацетонітрилом з подальшим центрифугуванням (спосіб 9), а також дія ультразвуку (спосіб 10).

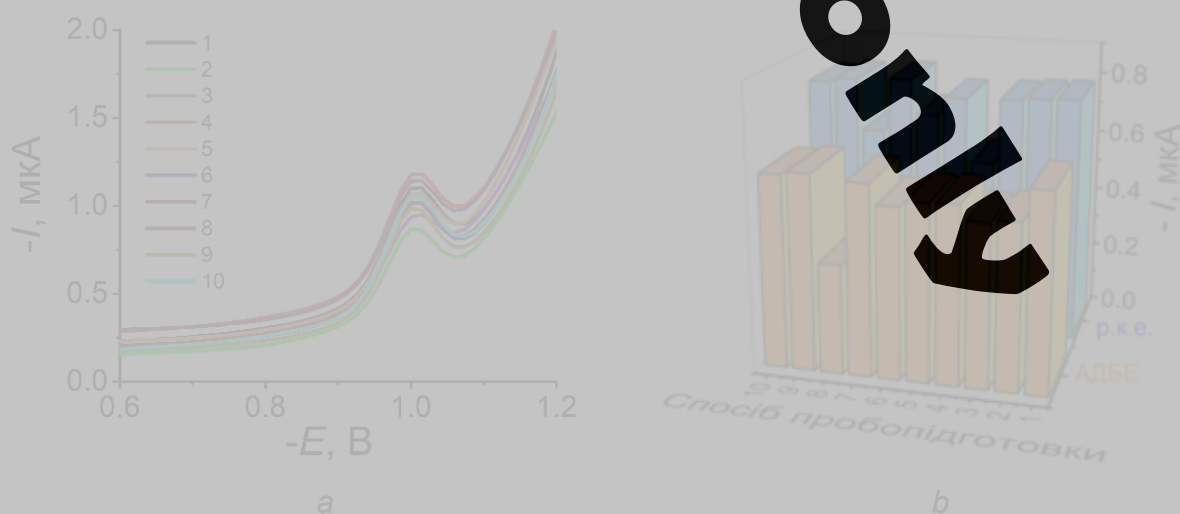


Рис. 1. Вигляд полярограм для ХН (а) і залежність струму відновлення ХН від способу підготовки зразків сечі на АДБЕ та р.к.е. (б). $C_{\text{ХН}} = 4.0 \cdot 10^{-5}$ М; для р.к.е. рН= 6.0; для АДБЕ рН= 5.5.

Найпростіший спосіб пробопідготовки – 1:2 розбавлення зразків фоновим електролітом – дає змогу зменшити вплив матриці на аналітичний сигнал. Проте внаслідок розбавлення зменшується концентрація аналіту, що впливає на інтенсивність аналітичного сигналу. Тому додатково дослідили вплив розбавлення фоновим електролітом у різних співвідношеннях від 1:5 до 1:500 на АДБЕ та р.к.е. У випадку АДБЕ (рис.2а), чіткий аналітичний сигнал та незначний вплив компонентів сечі на значення струму відновлення ХН простежується у разі розбавлення 1:2, а також 1:10 після центрифугування сечі. Однак для р.к.е. чіткий аналітичний сигнал спостерігали навіть у разі розбавлення 1:5 (рис.2б), тому постало питання, чи не можна визначати ХН у сечі при мінімальному розбавленні зразка. Однак у разі розбавлення

1:2 аналітичний сигнал спотворюється, струм у піку відновлення ХН зменшується (рис.2б), тому для отримання градуовального графіка на р.к.е. обрали 5-кратне розбавлення зразка сечі (табл. 3).

СДМ та ПЛАТ не відновлюються на р.к.е., тому ми використали розроблений у нашій лабораторії підхід – попередню дериватизацію аналітів за допомогою Оксону до продуктів, здатних відновлюватися на р.к.е. (N-оксидів, S-оксидів тощо) [24, 34, 49, 50]. Більше того, такі продукти окиснення одночасно є метаболітами цих речовин, які потенційно можуть виявлятися у сечі [24].

Відновленню деривату СДМ на р.к.е. відповідає чіткий пік за потенціалу -0.26 В (рис.3), який придатний для розроблення полярографічної методики. N-оксид ПЛАТ відновлюється на поверхні р.к.е. за потенціалу -0.78 В.

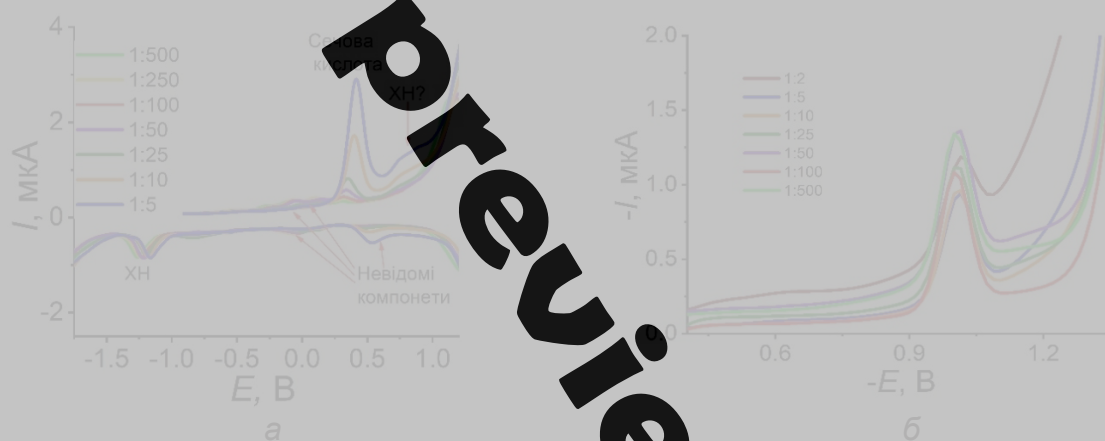


Рис.2. Вигляд циклічних диференціально-імпульсних вольтамперограм АДБЕ (а) та полярограм (б) за різних розбавлень сечі для $C_{\text{ХН}} = 5.0 \cdot 10^{-5}$ М, pH= 5.5 (а) і pH= 6.0 (б).

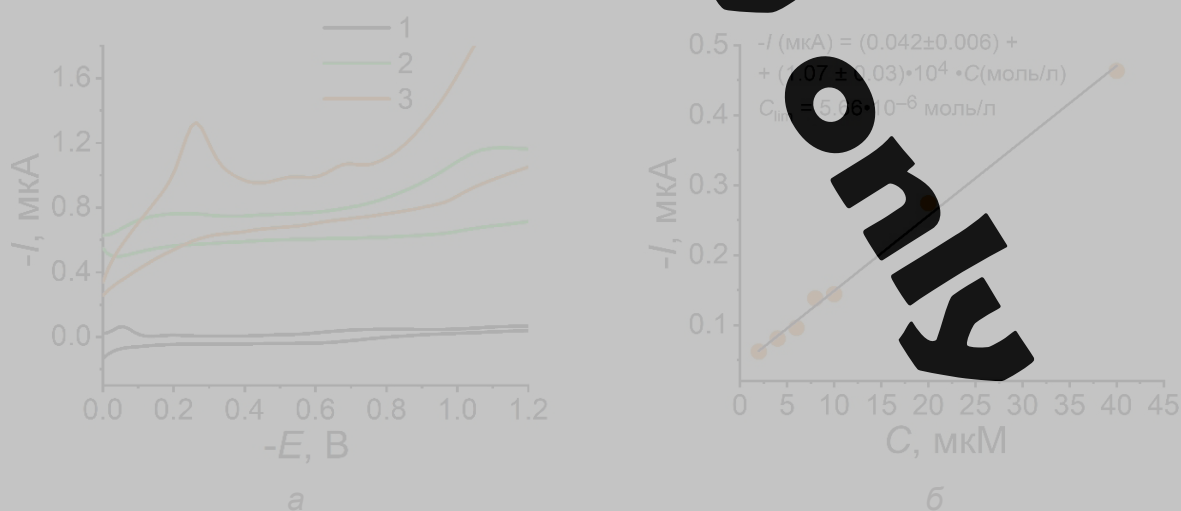


Рис.3. Полярограми (а) до (1) та після (3) хімічного окиснення СДМ за допомогою Оксону, а також у розчині оксидника Оксону, який не містить СДМ (2) на фоні УБС: $C_{\text{СДМ}} = 5.3 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{Оксону}} = 2.8 \cdot 10^{-4}$ М, pH= 4.5. Градуовальний графік (б), який побудовано за струмом першого катодного піку для деривату СДМ, $C_{\text{Оксону}} = 4.0 \cdot 10^{-4}$ М, pH= 4.5.

Методика полярографічного визначення N-оксиду ПЛАТ опублікована у [34]. Для дослідження попередньо отримували деривати ПЛАТ і СДМ, як описано у п. 2, та вводили точні аліквоти дериватів у необроблену сечу, як описано у п. 2.1. Згідно з отриманими результатами щодо підготовки сечі для визначення ХН за струмом відновлення, дослідили лише найефективніші, на наш погляд, способи 1, 5, 9 і 10 (рис. 4).

Найвище значення струму відновлення N-оксиду ПЛАТ та деривату СДМ отримали у разі дії ультразвуку на зразок сечі (спосіб 10) та при розбавленні зразка фоновим електролітом (спосіб 1) (рис. 4а). Однак щоб отримати чіткий аналітичний сигнал, пробу сечі треба розбавляти щонайменше у 25 разів (рис. 4б).

Для перевірки можливості отримання деривату

СДМ безпосередньо у сечі до її проби вводили аліквоту СДМ, додавали сторазовий щодо СДМ надлишок окисника й окиснювали СДМ, як це описано у п. 2. Потім отриманий розчин розбавляли фоновим електролітом у мірній колбі місткістю 25.0 мл, переносили в комірку, видаляли розчинений кисень і реєстрували полярограми. Однак у такому разі пік відновлення деривату СДМ не проявився. Причина, очевидно, полягає у тому, що неселективний окисник Оксон вступає у конкуруючі реакції з компонентами сечі, і дериват СДМ не утворюється. Отже, така методика якісно придатна для визначення у сечі тільки метаболіту СДМ, який відповідає отриманому деривату, і зовсім не придатна для визначення СДМ без дериватизації. Крім того, чутливість такого визначення навіть щодо модельних розчинів (рис. 3б) недостатня.



Рис. 4. Полярограми СДМ (а), N-оксиду ПЛАТ (б) при різних способах пробопідготовки сечі; полярограми N-оксиду ПЛАТ у разі різних розбавлень сечі (в); залежність струму відновлення N-оксиду ПЛАТ і деривату СДМ від способу підготовки зразків сечі (г). $C_{\text{СДМ}} = 6.0 \cdot 10^{-5}$ М; $C_{\text{ПЛАТ}} = 4.0 \cdot 10^{-5}$ М, pH = 4.5 (а) та pH = 5.1 (б, в).

Для оцінювання метрологічних характеристик вольтамперометричного визначення ХН і N-оксиду ПЛАТ у сечі ми отримали градувальні графіки за струмом відновлення цих речовин за обраних способів пробопідготовки сечі (табл.3). Очевидно, що межі полярографічного визначення ХН та N-оксиду ПЛАТ недостатні для аналізу реальних зразків сечі людей після прийому відповідних лікарських засобів. Така методика не має перспектив до застосування й з огляду на обмежене використання р.к.е. в контрольно-аналітичних лабораторіях.

Аналітичні параметри для вольтамперометричного визначення ХН на АДБЕ, які подано у [20], цілком відповідають потребам аналізу біологічних рідин. Тому далі перевірили правильність вольтамперометричного визначення ХН з використанням АДБЕ методом “уведено-знайдено”. Для цього вводили до необробленої сечі аликвоту стандартного розчину ХН, ретельно перемішували й аналізували цей зразок методом добавок. Отриману експериментальну кількість ХН порівнювали з уведеною кількістю й отримали задовільні результати (табл.4): достатньо збіжні, не обтяжені систематичною похибкою

(значення t -критерію, обчисленого на підставі експериментальних даних, не перевищує критичного значення 4.30), ступінь визначення в межах 90–110% прийнятний для аналізу біологічних рідин.

Оцінювання екологічності розроблених вольтамперометричних методик

У [4] описано 10 принципів “зеленої” пробопідготовки (Green Sample Preparation, GSP). Такий підхід забезпечує чіткі та ефективні вказівки для комплексного та систематичного “озеленення” способів підготовки проб і, зрештою, аналітичних методик. З метою оцінювання екологічності розроблених аналітичних методик використовують кілька підходів (калькуляторів): Analytical Eco-Scale (AES) [52], Green Certificate [53], AGREE metrics [54], Green Analytical Procedure Index (GAPI) [55], RGB additive color model (RGB) [56], Complementary Green Analytical Procedure Index (ComplexGAPI) [57] та нещодавно розроблений Blue Applicability Grade Index (BAGI), який є доповненням ComplexGAPI and AGREEprep [58]. Принципи та приклади до застосування в аналітичній практиці більшості цих підходів розглянуто в оглядових працях [59, 60].

Таблиця 3. Аналітичні характеристики отриманих градувальних графіків для визначення за струмом відновлення ХН і N-оксиду ПЛАТ у сечі на р.к.е.

Параметри	Аналіт	ХН	N-оксид ПЛАТ
	Спосіб пробопідготовки	Дія ультразвуку та розбавлення 1:5	Дія ультразвуку та розбавлення 1:25
Потенціал піку E , В		-1.0	-0.74
Межі лінійної залежності I , мкА від C , М		$8 \cdot 10^{-6} - 4 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-5} - 5 \cdot 10^{-5}$
Параметр $b \pm \Delta b$, мкА/М		$(0.27 \pm 0.07) \cdot 10^5$	$(0.136 \pm 0.005) \cdot 10^5$
Параметр $a \pm \Delta a$, мкА		0.235 ± 0.015	0.059 ± 0.015
Межа визначення C_{lim} , мкМ (мкг/мл)		7.4 (14.63)	10.09 (90.99)
Межа виявлення C_{min} , мкМ (мкг/мл)		2.5 (4.95)	3.6 (30.33)

Таблиця 4. Результати “уведено-знайдено” визначення ХН в сечі з використанням АДБЕ ($n=3$, $P=0.95$).

Додано ХН, мкг/мл	Знайдено ХН, мкг/мл						Ступінь визначення, %	
	ДІВ			КХВ			ДІВ	КХВ
	$\bar{X}$	RSD, %	$t_{\text{екс}}$	$\bar{X}$	RSD, %	$t_{\text{екс}}$		
4.96	4.92	4.74	0.28	4.52	4.79	3.56	99.1	91.1
7.94	8.74	4.09	3.86	8.62	4.43	3.10	110.1	108.6
9.92	10.4	3.86	2.01	10.2	2.44	1.75	105.1	102.6

Калькулятор AGREEprep орієнтований на оцінювання прободготовки згідно з принципами зеленої хімії [51]. Калькулятор оцінює 10 критеріїв, зокрема, інтегрування прободготовки в аналітичну процедуру, тривалість прободготовки, токсичність реагентів для дериватизації, їхню кількість тощо. Результатом є піктограма, яка показує результат за кожним критерієм аналітичної процедури і вагові коефіцієнти, які призначено користувачем (відображено кольором і розміром секторів), та остаточний результат-оцінку в центрі [51]. Що ближчою до одиниці є остаточна оцінка, то екологічнішою є методика. Варто додати, що простий у використанні калькулятор AGREEprep є у вільному доступі (<https://agreeprep.anvil.app/>). Такий спосіб екологічного оцінювання прободготовки часто використовують під час аналізу біологічних рідин [61, 65].

Спосіб BAGI розглядають як додаткову концепцію до існуючих інструментів зеленої метрики, яка поєднує в собі характеристики прободготовки та аналітичного визначення [66]. Оцінка BAGI також враховує сферу застосування методики, щоб оцінювання відбувалося в реальних діапазонах. Наприклад, BAGI розрізняє відмінності між методиками, які можна паралельно застосовувати як до мікрокількостей зразків, які потребують для аналізу геть невеликих затрат реагентів, так само до зразків харчових продуктів або навколишнього середовища, де кількість зразка можна легко збільшити для досягнення критеріїв, передбачених законодавством чи необхідної межі визначення [58]. Підсумкову оцінку BAGI вважають прийнятною, якщо вона перевищує 60 балів.

Підхід Green Certificate охоплює оцінювання характерних параметрів методики, таких як токсичність реагентів, енерговитрата приладів та вплив токсичних відходів на навколишнє

середовище. Також враховуються обсяги, якими використовуються реагенти, та яка кількість відходів утворюється. Максимальна оцінка, яку можна отримати згідно Green Certificate, – 100 балів. Однак, що більше використовується шкідливих речовин та енергозатратних приладів, то більші штрафні (від'ємні) бали [66].

Для оцінювання екологічності головну увагу ми зосередили на вольтамперометричному визначенні ХН з використанням АДБЕ [20], оскільки ця методика забезпечує належну селективність, чутливість, точність. За допомогою калькулятора AGREEprep [51] оцінили найефективніші способи прободготовки сечі:

1. Розбавлення зразків сечі фоновим електролітом.
2. Фільтрування через паперовий фільтр «синя стрічка».
5. Центрифугування.
6. Центрифугування з подальшим фільтруванням.
9. Осадження білків та інших компонентів сечі ацетонітрилом з подальшим центрифугуванням.
10. Дія ультразвуку.

Результати оцінювання AGREEprep показано на піктограмах рис.5. Перший критерій (Sample preparation and placement) – сектор червоного кольору на піктограмах – однаково негативно впливає на всі розглянуті способи, оскільки в будь-якому разі пробу треба доставити у лабораторію, тобто аналіз *ex situ*. Приблизно однаково на підсумкову оцінку впливає також останній критерій, який характеризує інтеграцію автоматизацію прободготовки: попри те, що у підготовці проб було не більше двох окремих кроків, використовували напівавтоматичні або ручні системи. Закономірно найнижче оцінено спосіб 9, у якому білки осаджували ацетонітрилом:



Рис. 5. Порівняння використаних способів підготовки зразків сечі для вольтамперометричного визначення ХН за допомогою калькулятора AGREEprep.

використання органічного розчинника негативно вплинуло на другий ("Небезпечні матеріали") та десятий ("Кількість окремих небезпек для виконавця") критерії. Практично однакові найвищі оцінки отримали способи підготовки проб 1, 5 і 10, тобто, такі способи є екологічними. Проте метрологічні характеристики найліпші у разі дії ультразвуку (спосіб 10), зокрема, межа визначення ХН становить 0.17 мкМ [20]. Тому саме таку методику ми обрали для порівняння із іншими відомими [21, 67–69] методиками визначення ХН в сечі.

Згідно із Green certificate metric розроблена нами методика визначення ХН отримала найвищу оцінку 100 балів (рис. 6а), оскільки цілком не потребує органічних розчинників, а з реагентів необхідний тільки фоновий електроліт – універсальна буферна суміш. Крім того, не утворюється значної кількості відходів (зливів). Тому розроблена методика з погляду екологічності випередила методику з використанням капілярного електролізу (КЕ), що зайняла другу позицію – 98 балів. В останній як реагенти для рухливої фази використовують 0.5 М H_2SO_4 та 1 мМ NaH_2PO_4 [68]. Для екологічного визначення ХН методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) потрібна суміш діетилану з толуеном та ізопропанолом (у співвідношенні 4:5), яку використовували як рухливу фазу [69]. Тому методику ТШХ оцінено тільки у 76 бала. Найнижчі бали для газохроматографічного визначення з маспектрометричним детектуванням (ГХ-МС) зумовлені використанням мікроекстракції на стадії пробопідготовки сечі [67].

Згідно із AGREE metric вольтамперометричну методику визначення ХН у сечі знову оцінено найвище – 0.92 бала (рис. 6б). Нижчі оцінки інших опублікованих [21, 67–69] методик визначення ХН у сечі так само зумовлені потребою використання органічних розчинників, а також високими витратами електроенергії для роботи приладів (для КЕ та ГХ). Крім того, газохроматографічна методика отримала додаткові штрафні бали через найбільшу витрату реактивів (рис. 6б).

Згідно критеріїв BAGI розроблена нами методика визначення ХН отримала оцінку 77.5 (рис. 6в). На піктограмі BAGI десять секторів відповідають десяти критеріям оцінювання, інтенсивніший відтінок синього кольору відповідає вищій оцінці. Низькими балами запропоновану нами методику оцінено за другим критерієм, який характеризує можливість одночасного визначення кількох аналітів (Multi- or single-element analysis). Причина цієї низької оцінки полягає в тому, що ми експериментально перевірили щодо такого критерію досить обмежений перелік речовин (нікотин, аскорбінова кислота, сечова кислота, дофамін). За потреби, залежно від вирішуваного завдання перелік таких речовин можна розширити. Так само як за іншими методиками оцінювання екологічності, за BAGI низькі оцінки отримали критерії ступеня інтеграції та автоматизації пробопідготовки та вимірювання сигналу (критерії дев'ять і дев'ять, відповідно), а також критерій безпеки для аналізу. Згідно із десятим критерієм, 500–1000 мкл сечі – це досить велика кількість для

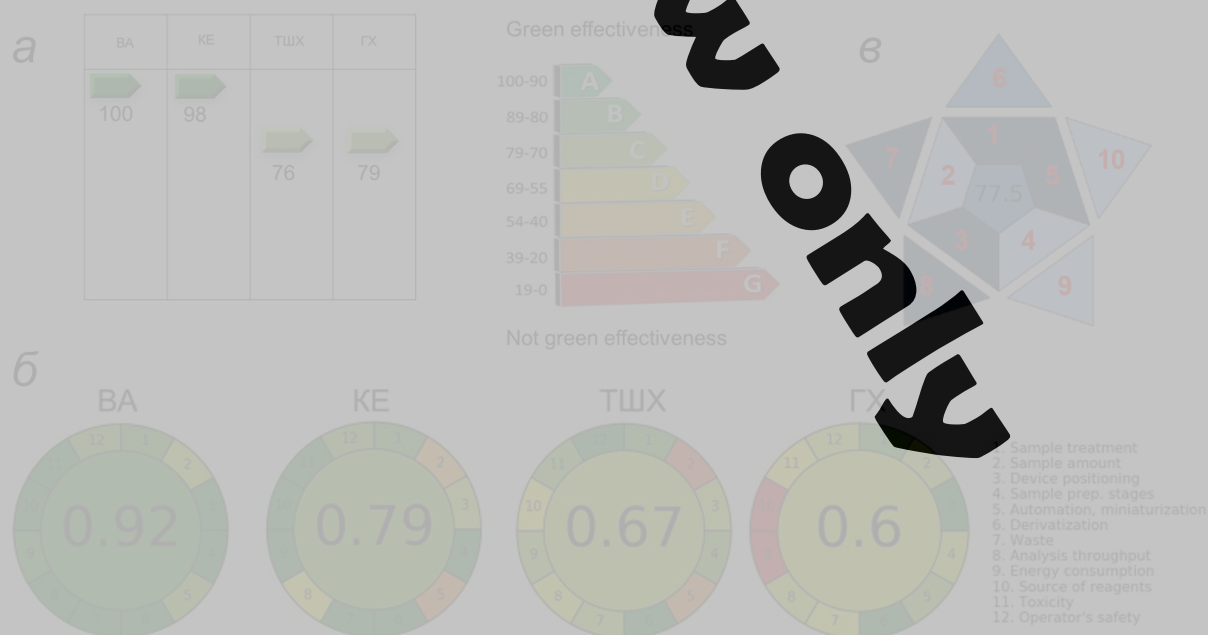


Рис. 6. Порівняння запропонованих способів визначення хініну в сечі з використанням принципів Green certificate (а), AGREE metric (б) та BAGI (в).

біологічного зразка.

Отже, як показав критичний аналіз, згідно з принципами зеленої аналітичної хімії розроблену нами вольтамперометричну методику визначення ХН в сечі можна вважати екологічною.

Висновки

Пробопідготовка – ключовий етап будь-якого визначення, який забезпечує належну межу визначення та правильність аналізу загалом. У цій роботі ми порівняли застосування різних способів пробопідготовки сечі для вольтамперометричного визначення алкалоїда хініну, N-оксиду платифіліну – головного метаболіту алкалоїда платифіліну та протимікробного препарату сульфадиметоксину.

Вольтамперометричне визначення речовин за струмом відновлення селективніше, ніж за струмом окиснення, оскільки здатних до відновлення на електродах органічних речовин значно менше. Зокрема, вольтамперометричному визначенню багатьох аналітів за анодним струмом заважає один з головних компонентів сечі – сечова кислота.

Експериментальні дані засвідчили, що пробопідготовка сечі до аналізу вольтамперометричним методом за власним сигналом аналіту (хінін) є достатньо експресною і простою, та дає змогу визначити хінін на рівні 30 нг/мл, що значно менше терапевтичних кількостей та відповідає кількостям нативної речовини, які виводяться з організму сечею. Однак, якщо постає потреба дериватизації аналіта (сульфадиметоксин, платифілін) з використанням неселективного реагента, то вольтамперометрично проаналізувати сечу щодо цього аналіта з мінімальною пробопідготовкою не можна. Головний чинник, який унеможливає вольтамперометричне визначення метаболіту платифіліну (N-оксиду) у сечі, – межа визначення,

яка недостатня для аналізу реальних зразків сечі людей після прийому відповідних лікарських засобів. Чутливість та межа визначення сульфадиметоксину, оцінені з використанням модельних розчинів, вказують на недоцільність розробки відповідної методики для аналізу реального зразка сечі.

Згідно з оцінюванням за допомогою калькулятора AGREEprep розбавлення зразків сечі фоновим електролітом, центрифугування та дію ультразвуку можна вважати як екологічні способи пробопідготовки. Однак, з погляду аналітичних характеристик методики (зокрема, C_{lim} та впливу матричних компонентів) оптимальним способом пробопідготовки сечі до вольтамперометричного визначення виявилася дія ультразвуку. Тому вольтамперометричну методику саме з такою підготовкою проби порівняли з іншими відомими методиками визначення хініну щодо їхньої екологічності. Розроблену нами вольтамперометричну методику оцінено найвищими балами згідно з усіма використаними методами (Green Certificate – 100 балів, AGREE metrics – 0.92 бала та Blue Applicability Grade Index – 77.5 бала), що свідчить про найвищу відповідність принципам зеленої аналітичної хімії.

Подяка

Дослідження профінансовано Міністерством освіти і науки України (Номер держреєстрації 0116U001541), а також частково The Simons Foundation (Award Number: 1290588).

Висловлюємо подяку Збройним Силам України та керівництву України за надію, натхнення, безпеку для наших сімей та можливість виконати цю роботу.

Література

1. Gałuszka, A.; Migaszewski, Z.; Namieśnik, J. The 12 Principles of Green Analytical Chemistry and the SIGNIFICANCE Mnemonic of Green Analytical Practices. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2013**, *50*, 78–84.
2. Pena-Pereira, F.; Lavilla, I.; Bendicho, C. Greening Sample Preparation: An Overview of Cutting-Edge Contributions. *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* **2021**, *30*, 100481.
3. Pacheco-Fernández, I.; Pino, V. Green Solvents in Analytical Chemistry. *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* **2019**, *18*, 42–50.
4. López-Lorente, Á. I.; Pena-Pereira, F.; Pedersen-Bjergaard, S.; et al. The Ten Principles of Green Sample Preparation. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2022**, *148*, 116530.
5. Vuckovic, D. Sample Preparation in Global Metabolomics of Biological Fluids and Tissues. In *Proteomic and Metabolomic Approaches to Biomarker Discovery*; Elsevier, 2020; pp 53–83.
6. Armenta, S.; Esteve-Turrillas, F. A.; Garrigues, S.; et al. Smart Materials for Sample Preparation in Bioanalysis: A Green Overview. *Sustain. Chem. Pharm.* **2021**, *21*, 100411.
7. Niu, Z.; Zhang, W.; Yu, C.; et al. Recent Advances in Biological Sample Preparation Methods Coupled with Chromatography, Spectrometry and Electrochemistry Analysis Techniques. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2018**, *102*, 123–146.
8. Wen, Y.; Li, J.; Ma, J.; et al. Recent Advances in Enrichment Techniques for Trace Analysis in Capillary Electrophoresis. *Electrophoresis*. **2012**, *33* (19–20), 2933–2952.
9. Li, N.; Zhang, T.; Chen, G.; et al. Recent Advances in Sample Preparation Techniques for Quantitative Detection of Pharmaceuticals in Biological Samples. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2021**, *142*, 116318.
10. Kole, P. L.; Venkatesh, G.; Kotecha, J.; et al. Recent Advances in Sample Preparation Techniques for Effective Bioanalytical Methods. *Biomed. Chrom.*

matogr. **2011**, 25 (1–2), 199–217.

11. Wen, Y.; Chen, L.; Li, J.; et al. Recent Advances in Solid-Phase Sorbents for Sample Preparation Prior to Chromatographic Analysis. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2014**, 59, 26–41.

12. Li, Z.; Shen, F.; Mishra, R. K.; et al. Advances of Drugs Electroanalysis Based on Direct Electrochemical Redox on Electrodes: A Review. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2022**, 1–46.

13. Ozkan, S. A.; Kauffmann, J.-M.; Zuman, P. *Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2015.

14. Maccaferri, G.; Terzi, F.; Xia, Z.; et al. Highly Sensitive Amperometric Sensor for Morphine Detection Based on Electrochemically Exfoliated Graphene Oxide. Application in Screening Tests of Urine Samples. *Sens. Actuators B Chem.* **2019**, 281, 739–745.

15. Sarakhman, O.; Dubenska, L.; Švorc, L. First Voltammetric Behavior Study of Non-Narcotic Analgesic Drug Nefopam and Its Reliable Determination on Boron-Doped Diamond Electrodes. *J. Electroanal. Chem.* **2020**, 858, 113759.

16. Dushna, O.; Dubenska, L.; Vojs, M.; et al. Highly Sensitive Determination of Atropine in Pharmaceuticals, Biological Fluids and Beverage on Planar Electrochemical Cell with Working Boron-Doped Diamond Electrode. *Electrochim. Acta.* **2022**, 432, 141182.

17. Soomro, R. A.; Nafady, A.; Hallam, K. R.; et al. Highly Sensitive Determination of Atropine Using Cobalt Oxide Nanostructures: Influence of Functional Groups on the Signal Sensitivity. *Anal. Chim. Acta.* **2016**, 948, 30–39.

18. Cinková, K.; Zbojčková, N.; Vojs, M.; et al. Electroanalytical Application of a Boron-Doped Diamond Electrode for Sensitive Voltammetric Determination of Theophylline in Pharmaceutical Dosages and Human Urine. *Anal. Methods.* **2015**, 7 (16), 6755–6763.

19. Abd-ElSabour, M.; Alsoghier, H. M.; Alhamzani, A. G.; et al. A Novel Electrochemical Sensor for Detection of Nicotine in Tobacco Products Based on Graphene Oxide Nanosheets Conjugated with (1,2-Naphthoquinone-4-Sulphonic Acid) Modified Glassy Carbon Electrode. *Nanomaterials* **2022**, 12 (14), 2354.

20. Dushna, O.; Dubenska, L.; Marton, M.; et al. Sensitive and Selective Voltammetric Method for Determination of Quinoline Alkaloid, Quinine in Soft Drinks and Urine by Applying a Boron-Doped Diamond Electrode. *Microchem. J.* **2023**, 191, 108839.

21. Geto, A.; Amare, M.; Tessema, M.; et al. Polymer-Modified Glassy Carbon Electrode for the Electrochemical Detection of Quinine in Human Urine and Pharmaceutical Formulations. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, 404 (2), 525–530.

22. Ahmar, H.; Fakhari, A. R. Electro-Oxidation and Adsorptive Stripping Voltammetric Determination

of Ephedrine and Pseudoephedrine at Carboxylated Multi-Walled Carbon Nanotube-Modified Electrode. *Anal. Methods.* **2012**, 4 (3), 812.

23. Dushna, O.; Dubenska, L.; Plotycya, S.; et al. The Alternative Voltammetric Method for the Determination of Nicotine and Its Metabolite Nicotine N-Oxide. *J. Electrochem. Soc.* **2022**, 169 (1), 016513.

24. Dubenska, L.; Dushna, O.; Pysarevska, S.; et al. A New Approach for Voltammetric Determination of Nefopam and Its Metabolite. *Electroanalysis.* **2020**, 32 (3), 626–634.

25. Pysarevska, S.; Dubenska, L.; Plotycya, S.; et al. A State-of-the-Art Approach for Facile and Reliable Determination of Benzocaine in Pharmaceuticals and Biological Samples Based on the Use of Miniaturized Boron-Doped Diamond Electrochemical Sensor. *Sens. Actuators B Chem.* **2018**, 270, 9–17.

26. Degefu, H.; Amare, M.; Tessema, M.; et al. Lignin Modified Glassy Carbon Electrode for the Electrochemical Determination of Histamine in Human Urine and Wine Samples. *Electrochim. Acta.* **2014**, 121, 307–314.

27. Zaugg, S.; Thormann, W. Capillary Electrophoretic Separation, Immunochemical Recognition and Analysis of the Diastereomers Quinine and Quinidine and Two Quinidine Metabolites in Body Fluids. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2001**, 24 (5–6), 785–799.

28. Samanidou, V. F.; Evaggelopoulou, E. N.; Papadoyannis, I. N. Simultaneous Determination of Quinine and Chloroquine Anti-Malarial Agents in Pharmaceuticals and Biological Fluids by HPLC and Fluorescence Detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, 38 (1), 21–28.

29. Kolaei, M.; Dashtian, K.; Rafiee, Z.; et al. Ultrasonic-Assisted Magnetic Solid Phase Extraction of Morphine in Urine Samples by New Imprinted Polymer-Supported on MWCNT-Fe₃O₄-NPs: Central Composite Design Optimization. *Ultrason. Sonochem.* **2016**, 33, 240–248.

30. Ait Lahcen, A.; Amine, A. Mini-Review: Recent Advances in Electrochemical Determination of Sulfonamides. *Anal. Lett.* **2018**, 51 (3), 424–441.

31. Özkan, S. A.; Uslu, B.; Aboul-Enein, H. Y. Analysis of Pharmaceuticals and Biological Fluids Using Modern Electroanalytical Techniques. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2003**, 33 (3), 155–181.

32. Hasanzadeh, M.; Shadjou, N.; Guardia, M. de la. Current Advancement in Electrochemical Analysis of Neurotransmitters in Biological Fluids. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2017**, 86, 107–121.

33. Hrioua, A.; Loudiki, A.; Farahi, A.; et al. Recent Advances in Electrochemical Sensors for Amoxicillin Detection in Biological and Environmental Samples. *Bioelectrochemistry.* **2021**, 137, 107687.

34. Dubenska, L. O.; Dushna, O. M.; Plyska, M. V.; et al. Method Of Polarographic Determination Of Platyphylline In A Form Of N-Oxide And Its Validation In Solution For Injection. *Methods Objects Chem. Anal.* **2020**, 15 (2), 83–92.

35. Plumlee, K. H. Pharmaceuticals. In *Clinical Veterinary Toxicology*; Elsevier, 2004; pp 282–336.
36. Groman, R. P. Miscellaneous Antibiotics. In *Small Animal Critical Care Medicine*; Elsevier, 2015; pp 944–949.
37. Du, J.; Jiang, Q.; Lu, X.; et al. Detection of Sulfadimethoxine Using Optical Images of Liquid Crystals. *Analyst*. **2019**, *144* (5), 1761–1767.
38. Zhang, Y.; Chang, X.; Wang, X.; et al. A Quadruple-Labeling Luminescence Strategy for Multiplexed Immunoassay of 51 Drugs in Milk with an Automated Pretreatment System. *Anal. Methods*. **2019**, *11* (39), 5055–5063.
39. Qiu, J.; Zhao, T.; Liu, Q.; et al. Residual Veterinary Antibiotics in Pig Excreta after Oral Administration of Sulfonamides. *Environ. Geochem. Health*. **2016**, *38* (2), 549–556.
40. Ji, H.; Wu, Y.; Duan, Z.; et al. Sensitive Determination of Sulfonamides in Environmental Water by Capillary Electrophoresis Coupled with Both Silvering Detection Window and In-Capillary Optical Fiber Light-Emitting Diode-Induced Fluorescence Detector. *Electrophoresis*. **2017**, *38* (3–4), 452–459.
41. Bai, Z.; Chen, Y.; Li, F.; et al. Electrochemical Aptasensor for Sulfadimethoxine Detection Based on the Triggered Cleavage Activity of Nuclease P1 by Aptamer-Target Complex. *Talanta*. **2019**, *204*, 409–414.
42. de Moura Junior, F. G.; Veloso, W. B.; de Oliveira Junior, J. A.; et al. Voltammetric Determination of Sulfanilamide Using a Cobalt Phthalocyanine Chitosan Composite. *Monats. Chem. – Chem. Mon.* **2021**, *152* (8), 895–902.
43. Wei, X.; Xu, X.; Qi, W.; et al. Molecularly Imprinted Polymer/Graphene Oxide Modified Glassy Carbon Electrode for Selective Detection of Sulfanilamide. *Prog. Nat. Sci.: Mater. Int.* **2017**, *27* (3), 374–379.
44. Chen, X.-X.; Lin, Z.-Z.; Hong, C.-Y.; et al. Label-Free Fluorescence-Based Aptasensor for the Detection of Sulfadimethoxine in Water and Fish. *Appl. Spectrosc.* **2019**, *73* (3), 294–303.
45. Новини лабораторії МТех. Режим доступу: <http://mtech-lab.com.ua/index.htm>.
46. Ermer J., M. J. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis: A Guide to Best Practice*; Wiley-VCH Publishers, 2005.
47. Lurie Yu. *Handbook of Analytical Chemistry 4th Ed., Reworked. and Ext.*; Moscow, 1971.
48. Dar, R. A.; Brahman, P. K.; Tiwari, S.; et al. Electrochemical Studies of Quinine in Surfactant Media Using Hanging Mercury Drop Electrode: A Cyclic Voltammetric Study. *Colloids Surf., B*. **2012**, *98*, 72–79.
49. Plotycya, S.; Dubenska, L.; Blazheyskiy, M.; et al. Determination of Local Anesthetics of Amide Group in Pharmaceutical Preparations by Cyclic Voltammetry. *Electroanalysis*. **2016**, *28* (10), 2575–2581.
50. Boiko, O.; Dubenska, L.; Novozhylova, M.; et al. Method for Polarographic Determination of Fentanyl with the Use of Oxon Reagent. *Visnyk of the Lviv University. Series Chemistry* **2020**, *61* (1), 178.
51. Pena-Pereira, F.; Tobiszewski, M.; Wojnowski, W.; et al. A Tutorial on AGREEprep an Analytical Greenness Metric for Sample Preparation. *Advances in Sample Preparation*. **2022**, *3*, 100025.
52. Gałuszka, A.; Migaszewski, Z. M.; Konieczka, P.; et al. Analytical Eco-Scale for Assessing the Greenness of Analytical Procedures. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2012**, *37*, 61–72.
53. Gallart-Mateu, D.; Cervera, M. L.; Armenta, S.; et al. The Importance of Incorporating a Waste Detoxification Step in Analytical Methodologies. *Anal. Methods*. **2015**, *7* (13), 5702–5706.
54. Pena-Pereira, F.; Wojnowski, W.; Tobiszewski, M. AGREE—Analytical GREENness Metric Approach and Software. *Anal. Chem.* **2020**, *92* (14), 10076–10082.
55. Płotka-Wasyłka, J. A New Tool for the Evaluation of the Analytical Procedure: Green Analytical Procedure Index. *Talanta*. **2018**, *181*, 204–209.
56. Nowak, P. M.; Kościelniak, P. What Color Is Your Method? Adaptation of the RGB Additive Color Model to Analytical Method Evaluation. *Anal. Chem.* **2019**, *91* (16), 10343–10352.
57. Płotka-Wasyłka, J.; Wojnowski, W. Complementary Green Analytical Procedure Index (Complex-GAPI) and Software. *Green Chem.* **2021**, *23* (21), 8657–8665.
58. Manousi, N.; Wojnowski, W.; Płotka-Wasyłka, J.; et al. Blue Applicability Grade Index (BAGI) and Software: A New Tool for the Evaluation of Method Practicality. *Green Chem.* **2023**.
59. Furió-Sanz, C.; Gallart-Mateu, D.; Armenta, S.; et al. A Green Evaluation of Ecstasy Determination Methods by Using Different Greenness Criteria. *Talanta Open*. **2023**, *7*, 100195.
60. Sajid, M.; Płotka-Wasyłka, J. Green Analytical Chemistry Metrics: A Review. *Talanta*. **2022**, *238*, 123046.
61. Gallart-Mateu, D.; Gallardo, A.; Garrigues, S.; et al. A Green Methodology for the Determination of Cocaine in Camouflaged Samples. *Anal. Methods*. **2023**, *15* (16), 1969–1978.
62. Azorín, C.; López-Juan, A. L.; Aparisi, F.; et al. Determination of Hexanal and Heptanal in Saliva Samples by an Adapted Magnetic Headspace Adsorptive Microextraction for Diagnosis of Lung Cancer. *Anal. Chim. Acta*. **2023**, *1271*, 341435.
63. Calero-Cañuelo, C.; Casado-Carmona, F. A.; Lucena, R.; et al. Mixed-Mode Cationic Exchange Sorptive Tapes Combined with Direct Infusion Mass Spectrometry for Determining Opioids in Saliva Samples. *J. Chromatogr. A*. **2023**, *1702*, 464097.
64. Suwanvecho, C.; Krčmová, L. K.; Švec, F. Effective, Convenient, and Green Sample Preparation for the Determination of Retinol and Retinol Acetate in Human Serum Using Pipette Tip Microextraction. *Talanta*. **2023**, *262*, 124689.

65. Ali, H. M.; Alsohaimi, I. H.; Hasanin, T. H. A.; et al. LC–MS/MS Approach for Simultaneous Assessment of Hyoscine *N*-butyl Bromide and Ketoprofen in Biological Fluids and Pharmaceuticals. *Biomed. Chromatogr.* **2023**, 37 (5).
66. Solid-Phase Microextraction Under the Thin Film Format. In *Analytical Microextraction Techniques*; Roldán-Pijuán, M., Lucena, R., Cárdenas, S., Valcárcel, M., Eds.; Bentham Science Publishers, 2017; pp 306–326.
67. Jain, R.; Mudiam, M. K. R.; Ch, R.; et al. Ultrasound Assisted Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Followed by Injector Port Silylation: A Novel Method for Rapid Determination of Quinine in Urine by GC–MS. *Bioanalysis*. **2013**, 5 (18), 2277–2286.
68. Mikuš, P.; Maráková, K.; Veizerová, L.; et al. 2D Capillary Electrophoresis Hyphenated with Spectral Detection for the Determination of Quinine in Human Urine. *J. Chromatogr. Sci.* **2012**, 50 (10), 849–854.
69. Lugimbana, L.; Malebo, H.; Segeja, M.; et al. A Simple Technique for the Detection of Anti-Malarial Drug Formulations and Their Presence in Human Urine. *Tanzan J. Health Res.* **2009**, 8 (3).