

## СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ АНТИОКСИДАНТА НАТРІЙ МЕТАБІСУЛЬФІТУ У ГОТОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ ВЕТЕРИНАРНИХ ПРЕПАРАТІВ

Г. Ю. Тесляр<sup>1</sup>, старший науковий співробітник,  
М. Я. Смолінська<sup>1</sup>, канд. хім. наук,  
І. Я. Коцюмбас<sup>1</sup>, д-р вет. наук, професор, академік НААН,  
Н. М. Чигин<sup>1</sup>, Н. Г. Рогуля<sup>1</sup>, старші лаборанти з вищою освітою,  
А. Р. Пилип<sup>2</sup>, студент

<sup>1</sup>Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів  
та кормових добавок,

вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна  
[director@scivp.lviv.ua](mailto:director@scivp.lviv.ua)    [boiko\\_maria@ukr.net](mailto:boiko_maria@ukr.net)

<sup>2</sup>Альбертський університет,  
116 вул. і 85 проспект, Едмонтон, АВ Т6G 2R3, Канада

*Запропоновано аналітичну методику кількісного визначення антиоксиданта натрій метабісульфіту у ветеринарних препаратах спектрофотометричним методом. На основі даних літератури експериментальним шляхом підібрано оптимальні умови аналітичної реакції. Для встановлення оптимальних умов аналітичної реакції та отримання стабільного аналітичного сигналу досліджено залежність величини аналітичного сигналу від температури реакційного середовища, від концентрації п-розаніліну та від тривалості реакції. Також перевірено стійкість забарвленої аналітичної форми в часі та досліджено лінійну залежність величини аналітичного сигналу від концентрації натрій метабісульфіту. Оптимальним є проведення аналітичної реакції за кімнатної температури. Максимальний аналітичний сигнал досягається при проведенні аналітичної реакції впродовж 10 хв і потім практично не змінюється впродовж години. Для досягнення максимального аналітичного сигналу необхідно використовувати 20-кратний надлишок барвника відносно натрій метабісульфіту. Аналітичний сигнал залишається стабільним лише впродовж першої години, потім поступово починає зменшуватись. Обчислено метрологічні характеристики методики визначення метабісульфіту у ветеринарних препаратах, межі спектрофотометричного визначення становлять 0,33 – 2,50 мкг/мл. Правильність розробленої методики перевіряли на модельних розчинах методом "введено-знайдено" способом порівняння в присутності різних біологічно-активних речовин, що входять до складу лікарських засобів разом з натрій метабісульфітом. Встановлено вміст натрій метабісульфіту у ветеринарних препаратах вітчизняного та закордонного виробництва на різних проміжках часу їх зберігання. Показано, що вміст натрій метабісульфіту у препаратах зменшується впродовж їх часу зберігання, аж до повного зникнення, що прямо впливає на вміст діючої речовини, оскільки за відсутності антиоксиданта починають проходити окисні процеси з біологічно активними речовинами препаратів.*

**Ключові слова:** АНТИОКСИДАНТ, НАТРІЙ МЕТАБІСУЛЬФІТ, П-РОЗАНІЛІН, СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ, ВЕТЕРИНАРНІ ПРЕПАРАТИ, ВАЛІДАЦІЯ.

## SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF ANTIOXIDANT SODIUM METABISULPHITE CONTENT IN PREPARED MEDICINAL FORMS OF VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS

*H. Yu. Teslyar<sup>1</sup>, M. Ya. Smolinska<sup>1</sup>, I. Ya. Kotsyumbas<sup>1</sup>, N. M. Chyhyn<sup>1</sup>, N. G. Rohulia<sup>1</sup>, A. R. Pilip<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives  
11. Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine  
[director@scivp.lviv.ua](mailto:director@scivp.lviv.ua)    [boiko\\_maria@ukr.net](mailto:boiko_maria@ukr.net)

<sup>2</sup>University of Alberta,  
116 St & 85 Ave, Edmonton, AB T6G 2R3, Canada

An analytical method for the quantitative determination of antioxidant sodium metabisulphite in veterinary drugs has been proposed by spectrophotometric method. Based on the literature data, the optimal conditions of the analytical reaction were selected experimentally. The dependence of the value of the analytical signal on the temperature of the reaction medium, concentration of p-rosaniline and duration of the reaction was investigated to establish the optimal conditions of the analytical reaction and obtain a stable analytical signal. The stability of the colored analytical form in time was also checked and the linear dependence of the value of the analytical signal on the concentration of sodium metabisulphite was investigated. The analytical reaction at room temperature is optimal. The maximum analytical signal is achieved by carrying out the analytical reaction for 10 minutes and then practically does not change for an hour. To achieve the maximum analytical signal, it is necessary to use a 20-fold excess of dye relative to sodium metabisulphite. The analytical signal remains stable only for the first hour, then gradually begins to decrease. Metrological characteristics of the method of determination of metabisulphite in veterinary drugs are calculated, the limits of spectrophotometric determination are 0.33 – 2.50 µg/ml. The correctness of the developed method was checked on model solutions by the method of "introduced-found" method of comparison in the presence of various biologically active substances that are part of drugs together with sodium metabisulphite. The content of sodium metabisulphite in veterinary drugs of domestic and foreign production at different intervals of their storage time was established. It is shown that the content of sodium metabisulphite in drugs decreases during their storage time, until complete disappearance, which directly affects the content of the active substance, because in the absence of antioxidant oxidative processes with biologically active substances begin to take place.

**Keywords:** ANTIOXIDANT, SODIUM METABISULPHITE, P-ROSANILINE, SPECTROPHOTOMETRY, VETERINARY DRUGS, VALIDATION.

Створення ефективних ветеринарних препаратів пов'язане з використанням великої кількості допоміжних речовин. Серед них особливо важлива роль належить так званім «активним» допоміжним речовинам, тому що саме вони зумовлюють фізико-хімічні характеристики та фармакокінетику лікарських форм ветеринарних препаратів (ВП), а також забезпечують незмінність структури і функції активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) лікарських засобів упродовж визначеного терміну придатності. До таких допоміжних речовин належить ряд стабілізуючих речовин, зокрема, антиоксиданти різної хімічної природи. У виробництві водних ін'єкційних розчинів використовують антиоксиданти, що мають високу хімічну активність. Відомо, що у водному середовищі ін'єкційних розчинів можуть доволі активно відбуватися різні хімічні процеси. Серед них найбільш поширеними є окиснювально-відновні реакції, що часто призводять до прямого окиснення молекул АФІ або їх окиснювального гідроксилювання тощо.

Антиоксиданти, легко взаємодіючи з вільними радикалами, атомарним та розчиненим молекулярним киснем – основними чинниками окиснювальних процесів, позбавляють їх

здатності до окиснення АФІ, забезпечуючи тим самим заявлену виробником ефективність ветеринарних препаратів, при дотриманні споживачем умов зберігання та застосування ВП.

Для виготовлення готових лікарських форм цілого ряду ін'єкційних ВП, до складу яких входять антибіотики лінкоміцин, спектиноміцин, канаміцин, гентаміцин, левамізол, тилозин та ін., як антиоксидант використовують натрій метабісульфіт – відносно дешеvu, ефективну та малотоксичну речовину (рис. 1). Вміст цієї допоміжної речовини в ін'єкційних ВП у процесі зберігання зменшується, часто до повного зникнення, через взаємодію натрій метабісульфіту з киснем, присутнім у розчині та в повітрі над поверхнею розчину препарату у флаконі. Це призводить до зменшення концентрації АФІ та утворення неактивних, здебільшого токсичних продуктів його окиснення, що призводить до негативних наслідків лікування при вживанні таких ВП [Salem et al., 2007].

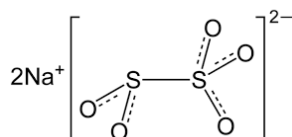


Рис. 1. Структурна формула натрій метабісульфіту

Відповідно до вимог Європейської Фармакопеї (Eur. Ph., 2016) та Державної Фармакопеї України (ДФУ) (ДФУ, 2014) кількісне визначення основної речовини у субстанції натрій метабісульфіту виконують методом йодометричного титрування. Кількісне визначення натрій метабісульфіту, як антиоксиданта, у складі ін'єкційного препарату фенолдопаму месилату, згідно з вимогами Американської Фармакопеї (USP 40-NF 35, 2016) проводять також методом йодометричного титрування.

Більшість даних літератури стосується визначення сульфідів в їжі та напоях, а також підземних водах, ґрунтах та промислових відходах. У періодичній науковій літературі для визначення натрій метабісульфіту пропонують титриметричні (Yogendra Kumar et al., 2006), спектрофотометричні (Fatibello-Filho & Da Cruz Vieira, 1997; Silva et al., 1998; Geetha & Balasubramanian, 2000; Marczenko & Balcerzak, 2000; Yang et al., 2002; Hassan et al., 2006; Li & Zhao, 2006; Abdul Galil et al., 2008; Ma et al., 2013; Saleem & Shekho, 2018), різні варіації електрохімічних методів – потенціометричні (Hassan et al., 2001), амперометричні (Hart et al., 2002; Pournaghi-Azar et al., 2003; Quinto et al., 2006) та вольтамперометричні (Manihar et al., 1999) методики. Також досить поширеним є метод високоефективної рідинної хроматографії з різними детекторами – спектрофотометричними (Rethmeier et al., 1997; Pizzoferrato et al., 1998; Zuo & Chen, 2003), флуориметричними (Miura et al., 2002) чи кондуктометричними (Hissner et al., 1999; Ubuka et al., 2001).

Однією з перших розроблених спектрофотометричних методик визначення сульфідів є методика з використанням *n*-розаніліну (рис. 2) (West & Gaeke, 1956; King & Pruden, 1969; Blacker et al., 1973). Існує багато її модифікацій (Li & Zhao, 2006; Almeida et al., 2018).

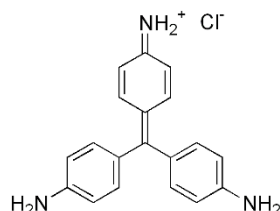


Рис. 2. Структурна формула *n*-розанілін гідрохлориду

Саме один з таких варіантів методики ЄФ пропонує для визначення сульфідів у субстанції глюкози (Eur. Ph., 2016). Одним з вразливих місць аналітичної реакції цієї методики є те, що залежно від умов, як продукт реакції, утворюється сульфід-*n*-розанілін різного складу,

оскільки з однією молекулою барвника може взаємодіяти або одна, або дві, або й три молекули сульфіту (Robins et al., 1980).

За використаних умов утворюється найбільш ймовірний продукт реакції пурпурового кольору – *n*-розанілінхлоридметиленсульфонова кислота (рис. 3).

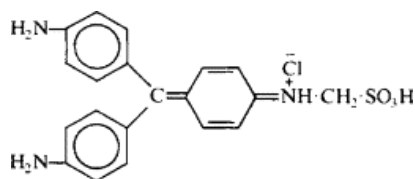


Рис. 3. Структурна формула пурпурового продукту реакції

Використання запропонованої методики вимагає додаткових досліджень. Тому, метою нашої роботи було встановлення умов кількісного визначення натрій метабісульфіту з *n*-розаніліном у готових лікарських формах ветеринарних препаратів спектрофотометричним методом, розробка альтернативної методики та обчислення її метрологічних характеристик.

**Матеріали і методи.** Об'єкт дослідження: ветеринарні препарати вітчизняного виробництва, що, згідно з реєстраційним посвідченням, містять натрій метабісульфіт.

У роботі використовували стандартні зразки діючих та допоміжних речовин фармакопейної чистоти, виробництва фірми Sigma-Aldrich (Німеччина).

СФ-вимірювання проводили на скануючому спектрофотометрі UV-2600, (Shimadzu, Японія) у кварцових кюветах з товщиною поглинаючого шару  $l = 1$  см.

У роботі використовували посуд лабораторний мірний клас А ("Simax", Чехія), електронну вагу ("Axis", Чехія).

#### **Готування реактивів**

##### *Готування 18,5 % розчину хлоридної кислоти*

Змішують однакові об'єми (по 40 см<sup>3</sup>) 37 % хлоридної кислоти і води у мірному циліндрі з притертим корком, ємністю 100 см<sup>3</sup>.

##### *Готування розчину n-розаніліну*

100 мг *n*-розаніліну розчиняють в хімічному стакані, ємністю 500 см<sup>3</sup>, додають 300 см<sup>3</sup> води, 80 см<sup>3</sup> розчину 18,5 % хлоридної кислоти. Перемішують упродовж 1 год за допомогою магнітної мішалки, кількісно переносять до мірної колби, ємністю 500 см<sup>3</sup> і доводять до мірної риски водою. Розчин готують за 12 год до визначення.

##### *Готування розчину натрій тетрахлормеркурату (Na ТХМ)*

4,7 г натрій хлориду та 10,9 г гідраргірум(II) хлориду розчиняють у 1900 см<sup>3</sup> води в хімічному стакані, ємністю 2000 см<sup>3</sup>. Перемішують за допомогою магнітної мішалки приблизно 1 год, кількісно переносять до мірної колби, ємністю 2000 см<sup>3</sup> та доводять до мірної риски тим самим розчинником.

##### *Готування розчину формаліну*

2 см<sup>3</sup> 37 % формаліну розчиняють в мірній колбі, ємністю 100 см<sup>3</sup> водою, доводять до мірної риски тим самим розчинником та ретельно перемішують. Відбирають 2 см<sup>3</sup> в мірну колбу, ємністю 100 см<sup>3</sup>, доводять тим самим розчинником до мірної риски та ретельно перемішують.

#### **Готування розчинів робочих зразків**

##### *Готування холодого розчину*

Змішують 1 см<sup>3</sup> розчину Na ТХМ, додають 5 см<sup>3</sup> розчину *n*-розаніліну, 10 см<sup>3</sup> формаліну, струшують і залишають на 3 хв у темному місці.

*Готування розчину робочого стандартного зразка натрій метабісульфіту чи натрій сульфіту (РСЗ)*

300 мг (точна наважка) стандартного зразка натрій метабісульфіту, у мірній колбі, ємністю 100 см<sup>3</sup>, доводять до мірної rischi розчином Na ТХМ та ретельно перемішують. Відбирають 1 см<sup>3</sup> розчину в мірну колбу, ємністю 100 см<sup>3</sup>, додають 50 см<sup>3</sup> розчину Na ТХМ і доводять до мірної rischi водою. Відбирають 1 см<sup>3</sup> розчину в пробірку, ємністю 20 см<sup>3</sup> з корком, додають 5 см<sup>3</sup> розчину *n*-розаніліну, 10 см<sup>3</sup> розчину формаліну, збовтують і залишають на 15 хв ( $T_{PC3}=1,856$  мкг/мл)

*Готування розчину робочого досліджуваного зразка препарату (РДЗ)*

10,0 г (точна наважка) препарату, у мірній колбі, ємністю 5 см<sup>3</sup>, доводять до мірної rischi розчином Na ТХМ та ретельно перемішують. Відбирають 1 см<sup>3</sup> розчину в мірну колбу, ємністю 100 см<sup>3</sup>, додають 50 см<sup>3</sup> розчину Na ТХМ і доводять до мірної rischi водою. Відбирають 1 см<sup>3</sup> розчину в пробірку, ємністю 20 см<sup>3</sup> з корком, додають 5 см<sup>3</sup> розчину *n*-розаніліну, 10 см<sup>3</sup> розчину формаліну, збовтують і залишають на 15 хв.

**Проведення випробування**

Вимірюють інтенсивність світлопоглинання спектрофотометрично за довжини хвилі  $\lambda_{max}=579\pm 2$  нм у кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см, проти холостого розчину.

*Обчислення результатів випробування*

Вміст натрій метабісульфіту, вираженого в мг/мл, обчислюють за формулою:

$$C = \frac{m_{ст.} \cdot W_{ст.} \cdot A_{пр.} \cdot P \cdot \rho}{m_{пр.} \cdot A_{ст.} \cdot P_{ст.}}$$

де:  $m_{ст.}$  – маса наважки стандартного зразка натрій метабісульфіту, використана для аналізу, мг;

$W_{ст.}$  – масова частка натрій метабісульфіту, %;

$A_{ст.}$  – значення інтенсивності світлопоглинання РСЗ;

$P$  – розведення стандарту;

$m_{пр.}$  – маса наважки препарату, використана для аналізу, г;

$\rho$  – густина препарату, г/мл;

$A_{пр.}$  – значення інтенсивності світлопоглинання РДЗ;

$P_{пр.}$  – розведення препарату.

**Результати й обговорення.** При взаємодії натрій метабісульфіту з *n*-розаніліном на електронних спектрах світлопоглинання продукту (рис. 4) спостерігається поява нового максимуму при  $\lambda_{max}=579\pm 2$  нм, оптична густина якого пропорційна концентрації натрій метабісульфіту у розчині.

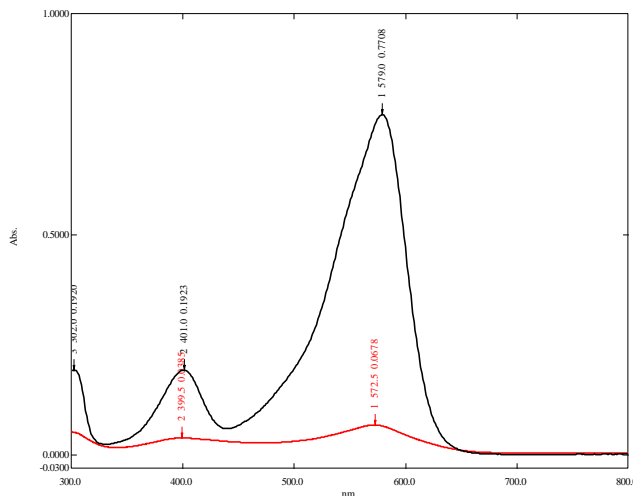


Рис. 4. Електронні спектри світлопоглинання забарвленої аналітичної форми натрій метабісульфіту з *n*-розаніліном

Для встановлення оптимальних умов аналітичної реакції та отримання стабільного аналітичного сигналу було досліджено залежність величини аналітичного сигналу від температури реакційного середовища, від концентрації *n*-розаніліну та від тривалості реакції. Також перевірено стійкість забарвленої аналітичної форми у часі та досліджено лінійну залежність величини аналітичного сигналу від концентрації натрій метабісульфіту.

Встановлено, що оптимальним є проведення аналітичної реакції за кімнатної температури, оскільки зниження температури реакційного середовища вимагає додаткових маніпуляцій, а аналітичний сигнал зростає лише на 0,03 (рис. 5).

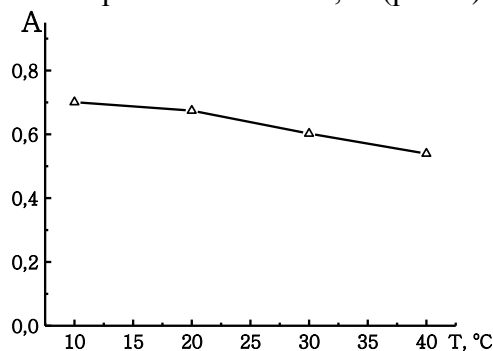


Рис. 5. Залежність величини аналітичного сигналу від температури реакційного середовища

Максимальний аналітичний сигнал досягається при проведенні аналітичної реакції впродовж 10 хв і потім практично не змінюється впродовж 1 години (рис. 6).

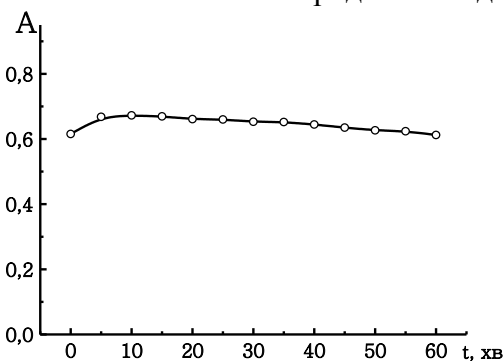


Рис. 6. Залежність величини аналітичного сигналу від тривалості реакції

Методом насичення встановлено необхідну концентрацію *n*-розаніліну для досягнення максимального аналітичного сигналу (рис. 7), яка рівна 20-кратному надлишку барвника відносно натрій метабісульфіту.

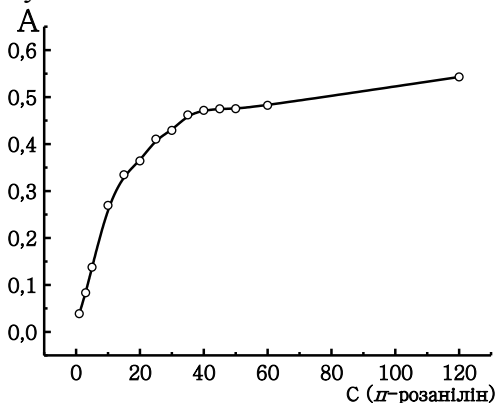


Рис. 7. Залежність величини аналітичного сигналу від концентрації *n*-розаніліну

Дослідження стійкості забарвленої аналітичної форми впродовж доби показало, що аналітичний сигнал залишається стабільним лише впродовж першої години, потім поступово починає зменшуватись (рис. 8).

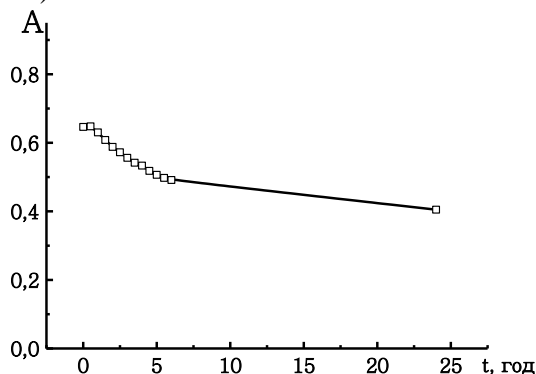


Рис. 8. Стійкість забарвленої аналітичної форми в часі

Проведеними дослідженнями було встановлено умови взаємодії натрій метабісульфіту з *n*-розаніліном і розроблено нову методику визначення концентрації цього відновника у розчинах лікарських засобів. На рис. 9 наведена крива залежності величини аналітичного сигналу від концентрації аналіту і, як видно з рис. 9, ця залежність є лінійною. У табл. 1 наведені метрологічні характеристики спектрофотометричного визначення натрій метабісульфіту з *n*-розаніліном.

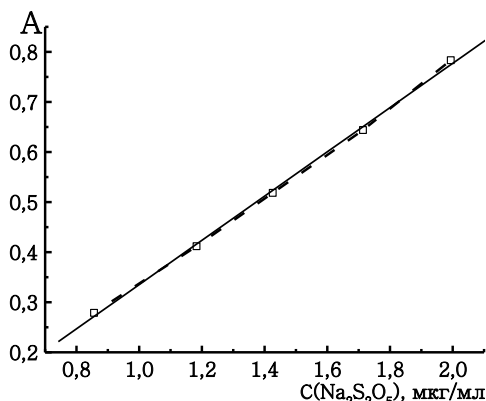


Рис. 9. Лінійна залежність величини аналітичного сигналу від концентрації аналіту.

Результати, наведені у табл. 1, є свідченням того, що розроблена методика характеризується широкими межами лінійності, доволі високою чутливістю, співмірною з відомими спектрофотометричними методиками визначення натрій метабісульфіту.

Таблиця 1

**Характеристики спектрофотометричного визначення натрій мета бісульфіту**

Параметри	Отримані значення
Межі спектрофотометричного визначення, мкг/мл	0,33 – 2,50
Рівняння графіка	$A = -0,107 + 0,442 \cdot C$
Межа виявлення, мкг/мл	0,11
Межа визначення, мкг/мл	0,33
Коефіцієнт кореляції	0,9993

Правильність розробленої методики перевіряли на модельних розчинах методом "уведено-знайдено" способом порівняння за присутності різних біологічно активних речовин, що входять до складу лікарських засобів, разом з натрій метабісульфітом. Результати, наведені

у табл. 2, є підтвердженням того, що методики є селективними стосовно вибраних сполук, характеризуються високою відтворюваністю, понад те, похибка визначення натрій метабісульфіту не перевищує похибки спектрофотометричного методу.

Таблиця 2

**Результати спектрофотометричного визначення натрій метабісульфіту у модельних розчинах**

Субстанція	Введено, мкг	Назва додаткової субстанції	Введено, мг	Знайдено	
				$\bar{x} \pm \frac{S \cdot t_{\alpha}}{\sqrt{n}}$ , мкг	S <sub>r</sub>
Натрій метабісульфіт	100	–	–	100 ± 2	0,025
		Тилозин тартрат	20	101 ± 2	0,031
		Левамізол	10	101 ± 2	0,030

Розроблену методику використовували для визначення натрій метабісульфіту у готових лікарських формах ветеринарних препаратів (табл. 3).

Таблиця 3

**Результати визначення натрій метабісульфіту у ветеринарних препаратах**

№ п/п	Назва препарату, серія	Фірма-виробник, країна	Термін придатності		Вміст Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/мл			
			Виготовлено	Придатний до	Внесено при виготовленні	Виявлено		
						2017	2018	2019
1	Левамізол 10 %	«O.L.KAR», Україна	12.2015 р.	12.2018 р.	1,6	1,37	1,04	0,23
2	Бровалевамізол 8 %	«Бровафарма», Україна	12.2015 р.	12.2018 р.	1,6	0,45	0,09	0,004
3	Гентавет 10 %	«Ветсинтез», Україна	03.2016 р.	03.2018 р.	3,2	2,12	1,56	0,43
4	Декавіт	«Ветсинтез», Україна	03.2016 р.	03.2018 р.	14,8	8,24	3,12	0,38

З результатів, наведених у табл. 3, можна стверджувати, що упродовж терміну зберігання та після його завершення вміст натрій метабісульфіту зменшується у складі різних препаратів з неоднаковою інтенсивністю, в окремих препаратах – практично до повного зникнення.

**В И С Н О В К И**

1. Досліджено оптимальні умови реакції натрій метабісульфіту з *n*-розаніліном – залежність величини аналітичного сигналу від температури реакційного середовища, від концентрації *n*-розаніліну та від тривалості реакції, а також стійкість забарвленої аналітичної форми в часі. На основі цих даних розроблено методику спектрофотометричного визначення натрій метабісульфіту.

2. Досліджено лінійну залежність величини аналітичного сигналу від концентрації натрій метабісульфіту та обчислено метрологічні характеристики розробленої методики.

3. Правильність розробленої методики перевірено на модельних розчинах методом "введено-знайдено" способом порівняння у присутності різних біологічно-активних речовин, що входять до складу лікарських засобів разом з натрій метабісульфітом.

4. Визначено вміст натрій метабісульфіту у різних готових лікарських формах ветеринарних препаратів на різних етапах терміну їх придатності та після нього. Показано, що впродовж терміну зберігання вміст натрій метабісульфіту зменшується у різних препаратів з



різною інтенсивністю аж до практично повного його зникнення до завершення цього терміну, що, очевидно, призводить до втрати придатності лікарського засобу.

5. Зникнення натрій метабісульфіту у складі препарату до закінчення терміну його придатності може бути наслідком різноманітних причин, зокрема: використання неякісного натрій метабісульфіту; надто інтенсивне перемішування розчину препарату в процесі приготування; використання підвищеної температури при розчиненні компонентів препарату; забруднення повітря у виробничому приміщенні тощо.

6. Для запобігання повного зникнення, внесеного за технологічним розрахунком, натрій метабісульфіту у складі виготовлюваного лікарського засобу, виробник повинен здійснювати вхідний контроль цього відновника, а також контролювати його вміст у свіжовиготовленому препараті ще до моменту його розливу у спожиткове пакування.

**Перспективи досліджень.** Буде проведено визначення вмісту АФІ та натрій метабісульфіту, а також досліджено кореляцію їх вмісту у ветеринарних препаратах впродовж часу їх зберігання та після завершення цього терміну.

## References

Abdul Galil, M.S., Yogendra Kumar, M.S., Sathish, M.A., Nagendrappa, G. (2008). Simple spectrophotometric method for the determination of sulfur dioxide by its decolorizing effect on the peroxovanadate complex. *J Anal Chem*, 63 (3), 239–243.

Almeida, Jr P.L., Figueiredo do Bonfim, T.H., Cunha, F.A.S., Lima, K.M.G., Aquino, J.S., Almeida, L.F. (2018). A rapid, sensitive and green analytical method for the determination of sulfite in vinegars using pararosaniline reaction with image detection. *Anal Met*, 10 (4), 448–458.

Blacker, J.H., Confer, R.G., Brief, R.S. (1973). Brief note on an evaluation of the reference method for determination of sulfur dioxide in the atmosphere (pararosaniline method). *J Air Pollution Control Association*, 23 (6), 525–527.

Derzhavna Farmakopeia Ukrainy v 3 tomakh. (DFU) (2014). Derzhavne pidpriemstvo «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». 2-e vydannya. Kharkiv: Derzhavne pidpriemstvo «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». 2. 724. [In Ukrainian].

European Pharmacopoeia (Eur. Ph.). (2016). 8-th Ed. Strasbourg: Council of Europe.

Fatibello-Filho, O. & Da Cruz Vieira, I. (1997). Flow injection spectrophotometric determination of sulfite using a crude extract of sweet potato root (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) as a source of polyphenol oxidase. *Anal Chim Acta*, 354 (1–3), 51–57.

Geetha, K. & Balasubramanian, N. (2000). An indirect method for the determination of sulfur dioxide using Methyl Red. *Microchem J*, 65(1), 45–49.

Hassan, S.S.M., Hamza, M.S.A., Mohamed. A.H.K. (2006). A novel spectrophotometric method for batch and flow injection determination of sulfite in beverages. *Anal Chim Acta*, 570 (2), 232–239.

Hassan, S.S.M., Marei, S.A., Badr. I.H., Arida, H.A. (2001). Flow injection analysis of sulfite ion with a potentiometric titanium phosphate-epoxy based membrane sensor. *Talanta*, 54 (4), 773–782.

Hart, J.P., Abbass, A.K., Cowell, D. (2002). Development of disposable amperometric sulfur dioxide biosensors based on screen printed electrodes. *Biosens Bioelectron*. 17 (5), 389–394.

Hissner, F., Mattusch, J., Hening, K. (1999). Determination of sulfur-containing inorganic anions by dual ion chromatography and capillary electrophoresis – application to the characterization of bacterial sulfur degradation. *Fresenius J Anal Chem*, 365 (8), (647–653).

King, H.G.C. & Pruden, G. (1969). The determination of sulphur dioxide with rosaniline dyes. *Analyst*, 94, 43–48.

- Li, Y. & Zhao, M. (2006). Simple methods for rapid determination of sulfite in food products. *Food Control*, 17 (12), 975–980.
- Manihar, S., Brynn, H.D., Gooding, J.J., Baarnett, D. (1999). A sulfite biosensor fabricated using electrodeposited polytyramine: application to wine analysis. *Analyst*, 124 (12), P. 1775–1779.
- Marczenko, Z. & Balcerzak, M. Separation, Preconcentration and Spectrophotometry in Inorganic Analysis. (2000). *Analytical Spectroscopy Library*, Elsevier.
- Ma, Z., Sha, X., Li, Y, Zhang, J. (2013). A new spectrophotometry for determination of sulfite in food. *J Chinese Inst Food Sci Techn*, 13 (6), 215–219.
- Miura, Y., Hatakeyama, M., Hosino, T., Haddad, P.R. (2002). Rapid ion chromatography of L-ascorbic acid, nitrite, sulfite, oxalate, iodide and thiosulfate by isocratic elution utilizing a postcolumn reaction with cerium(IV) and fluorescence detection. *J Chromatogr A*, 956(1-2), 77–84.
- Pizzoferrato, L., Luulo, G., Quattrucci, E. (1998). Determination of free, bound and total sulphites in foods by indirect photometry-HPLC. *Food Chem*, 63 (2), 275–279.
- Pournaghi-Azar, M.H., Hydarpour, M., Dastangoo, H. (2003). Voltammetric and amperometric determination of sulfite using an aluminum electrode modified by nickel pentacyanonitrosylferrate film: application to the analysis of some real samples. *Anal Chim Acta*, 497 (1-2), 133–141.
- Quinto, M.S.M., Araki, K., Toma, H.E., Angeles, L. (2006). Amperometric quantification of sodium metabisulfite in pharmaceutical formulations utilizing tetra-ruthenated porphyrin film modified electrodes and batch injection analysis. *Talanta*, 68 (4), 1281–1286.
- Rethmeier, J., Rabenstein, A., Langer, M., Fischer, U. (1997). Detection of traces of oxidized and reduced sulfur compounds in small samples by combination of different high-performance liquid chromatography methods. *J Chromatogr A*, 760 (2), 295–302.
- Robins, J.H., Abrams, G.D., Pincoc, J.A. (1980). The structure of Schiff reagent aldehyde adducts and the mechanism of the Schiff reaction as determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *K Can J Chem*, 58 (339), 339–347.
- Salem, K.M., Yasser, F.El-S. (2007). Analysis of preservatives in pharmaceutical products. *Pharm Rev*, 5 (1), 1–54.
- Saleem, B.A.A. & Shekho, N.H. (2018). Spectrophotometric determination of sulphite in various water samples via chromium-1,5-diphenylcarbazide complex. *Baghdad Sci J*, 15 (2), 181–188.
- Silva, R.L.G.N.P., Silva, C.S., Nobrega, J.A., Neves, E.A. (1998). Flow injection spectrophotometric determination of free and total sulfite in wines based on the induced oxidation of manganese (II). *Anal Let*, 31 (13), 2195–2208.
- Ubuka, Y., Abe, T., Kajikawa, R., Morino, K. (2001). Determination of hydrogen sulfide and acid-labile sulfur in animal tissues by gas chromatography and ion chromatography. *J Chromatogr B*, 757 (1), 31–37.
- United States Pharmacopoeia, USP 40-NF35, (2016). Convention Inc., Rockville: The United States Pharmacopoeial Convention.
- West, P.W. & Gaeke, G.G. (1956). Fixation of sulfur dioxide as disulfitomercurate (II) and subsequent colorimetric estimation. *Anal Chem*, 28 (12), 1816–1819.
- Yang, X.-F., Guo, X.-Q., Zhao, Y.-B. (2002). Novel spectrofluorimetric method for the determination of sulfite with rhodamine B hydrazide in a micellar medium. *Anal Chim Acta*, 456 (1), 121–128.
- Yogendra Kumar, M.S., Gowtham Mahadevaian, M.D., Nagendrappa, G. (2006). Simple spectrophotometric and titrimetric methods for the determination of sulfur dioxide. *Anal Sci*, 22, 757–761.
- Zuo, Y. & Chen, H. (2003). Simultaneous determination of sulfite, sulfate, and hydroxymethanesulfonate in atmospheric waters by ion-pair HPLC technique. *Talanta*, 59 (5), 875–881.