

Borna Mašić

Student 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

Kemijski odsjek
Prirodoslovno-matematički fakultet
Sveučilište u Zagrebu

**Emisijska plamena fotometrija pri određivanju alkalijskih
elemenata u farmaceutskim pripravcima**

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za Analitičku kemiju

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Sanda Rončević

Zagreb, 2016.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:	20. srpnja 2016.
Datum predaje korigirane verzije Završnog rada:	6. rujna 2016.
Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:	16. rujna 2016.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Sanda Rončević

Potpis:

Sadržaj

§ Sažetak	iv
§ 1. Uvod.....	1
1.1. Emisijska plamena fotometrija	1
1.2. Alkalijski metali	3
§ 2. Ođređivanje natrija i kalija u oralnim rehidracijskim pripravcima (ORS).....	6
2.1. Uvod	6
2.2. Referentni raspon	6
2.3. Materijali.....	7
2.4. Metode	9
2.5. Rezultati i rasprava	12
2.6. Zaključak	12
§ 3. Literaturna vrela	14

§ Sažetak

Oralna rehidracijska terapija (ORT) je najčešća metoda preveniranja ili tretiranja dehidracije uzrokovane raznim bolestima poput dijareje, kolere, dizenterije i slično. Prilikom dehidracije, tijelo osim gubitka tekućine također gubi i vrlo važne elektrolite poput Na i K koje je uz vodu, također bitno nadomjestiti u zdravim koncentracijama. Za uspješnu terapiju je stoga jako važno znati točne količine Na i K koje se unose tijekom terapije. U određivanju količine Na i K u proizvodnji oralnih rehidracijskih soli (ORS) najčešće se koristi analitička metoda plamene fotometrije. U ovom radu, opisana je primjena plamene fotometrije u potvrđivanju sadržaja Na i K u prahovima koji sadrže oralne rehidracijske soli.¹

§ 1. Uvod

1.1. Emisijska plamena fotometrija

Plamena emisijska spektroskopija ili plamena fotometrija koristi plamen kao izvor zračenja za pobudu atoma, iona ili molekula. Najvažnija je primjena u određivanju koncentracije natrija, kalija, litija i kalcija u danom uzorku, primjerice u biološkim tekućinama i tkivima. Zbog svoje brzine i relativno malo interferencija uzrokovanih prisutnošću drugih elemenata u uzorku, plamena emisijska spektroskopija postala je najprikladnija metoda odabira za detekciju prethodno spomenutih elemenata koje je drugačije teško odrediti.² Plamena emisijska spektroskopija je, uz kvantitativnu analizu, vrlo korisna i u kvantitativnoj analizi. Lako je moguće snimiti cijele spektre. U ovom slučaju se identifikacija prisutnih elemenata temelji na valnim duljinama maksimuma, koje su jedinstvene za svaki element. U tom smislu plamena je emisija u velikoj prednosti u odnosu na plamenu apsorpciju, kojom se ne mogu dobiti cijeli spektri zbog diskontinuirane prirode primijenjenih izvora zračenja.

1.1.1. Instrumentacija

Plameni su emisijski instrumenti po građi slični plamenim apsorpcijskim instrumentima, uz iznimku izvora zračenja, koji je u prvom primjeru plamen. Stoga su nepotrebni žarulja sa šupljom katodom i djelatelj snopa. Neki instrumenti imaju mogućnost mjerenja ili emisije ili apsorpcije. Početni radovi u atomskoj emisijskoj analizi izvedeni su uz primjenu plamenika s turbulentim protokom. Međutim, u novije je vrijeme sve šira primjena plamenika s laminarnim protokom.

1.1.2. Spektrofotometar

Spektrofotometri se koriste za rutinske analize, i to u ultraljubičastom i vidljivom području uz mogućnost snimanja, a razlučivanje iznosi približno 0,05nm. Takvim se instrumentom mogu snimiti cijeli emisijski spektri, potrebni za identifikaciju elemenata prisutnih u uzorku.

1.1.3. Fotometar

Jednostavni fotometri s filterima često su dovoljni za rutinska određivanja alkalijских i zemnoalkalijских metala. Niskotemperaturni plamen primjenjuje se da bi se spriječilo pobuđivanje većine drugih metala. Kao posljedica toga, spektri su jednostavni, a interferencijski filtri mogu se primijeniti za izolaciju željene emisijske linije.

Nekoliko proizvođača instrumenata proizvodi plamene fotometre prilagođene posebice za analizu natrija, litija i kalija u krvnom serumu i drugim biološkim uzorcima. U tim instrumentima zračenje izvora razbijeno je u tri snopa približno jednake jakosti. Svaki od njih prolazi posebnim fotometrijskim sustavom koji se sastoji od interferencijskog filtra koji propušta emisijsku liniju jednog od elementa, a apsorbira one preostalih dvaju. Fotocijevi i pojačala služe pri detekciji emisijskog signala. Prema potrebi, izlazni signali se mogu mjeriti i odvojeno. Litij, uglavnom služi kao unutrašnji standard za analizu. Unutrašnji standard je čista tvar koja se u poznatim količinama dodaje svakom standardu i uzorku. Omjer signala uzorka i signala unutrašnjeg standarda upotrebljava se za određivanje koncentracije uzorka. U tu se svrhu u svaki uzorak i u svaki standard unosi stalna količina litija. Omjeri izlaznih signala između natrijevih i litijevih, te kalijevih i litijevih signala služe kao analitički parametri. Takav sustav pridonosi poboljšanju točnosti, jer većina analitičkih varijabla, kao što su temperatura plamena, brzina protoka goriva i pozadinsko zračenje, utječe na isti način na intenzitete triju linija. Pritom, očito, litij ne smije biti prisutan u uzorku.

Potpuno automatizirani fotometri temeljeni na segmentiranim protočnim sustavima primjenjuju se u kliničkim laboratorijima za određivanje natrija i kalija. U tim se instrumentima uzorci sekvencijalno uzimaju s okruglog pomičnog stolića, dijaliziraju radi uklanjanja bjelančevina i čestica, razrjeđuju litijskim unutrašnjim standardom te raspršuju u plamen. Baždarenje se izvodi automatski nakon testiranja svih uzoraka.

1.1.4. Interferencije

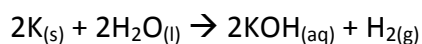
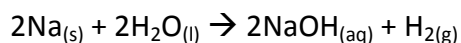
Interferencije se u plamenoj emisijskoj spektroskopiji pojavljuju zbog istih razloga kao i u atomskim apsorpcijskim metodama. Poteškoće kojima su one uzrok mijenjaju se ovisno o svakom pojedinačnom primjeru.

1.1.5. Analitičke tehnike

Analitičke tehnike u plamenoj emisijskoj spektroskopiji slične su onima u atomskoj apsorpcijskoj spektroskopiji. Primjenjuju se i baždarne krivulje i metoda dodatka standarda. Uz to se može upotrijebiti unutrašnji standard za kompenzaciju varijabilnosti plamena.

1.2. Alkalijski metali

Alkalijski metali su elementi 1. skupine periodnog sustava: litij, natrij, kalij, rubidij, cezij, francij. Zbog jednog elektrona u zadnjoj ljusci elektronskog omotača njihovih atoma imaju najmanju energiju ionizacije od svih ostalih metala. Kemijski su vrlo aktivni. Reaktivnost im raste porastom atomske mase, te vrlo lako reagiraju s različitim elementima. U prirodi ih nalazimo samo u spojevima dok se u elementarnom stanju moraju čuvati u posebnim uvjetima. Litij, natrij i kalij, da ne bi reagirali s tvarima iz zraka, čuvaju se u petroleju. Rubidij i cezij su reaktivniji, te se kao posljedica toga čuvaju u vakuumu. Alkalijski metali vrlo lako oksidiraju, što ih čini najjačim reducensima. Reakcije tih metala s vodom su izrazito burne, pri čemu se stvaraju jake lužine i razvija toplina.



Najčešći spojevi alkalijskih metala u prirodi su kloridi, među kojima je najrasprostranjeniji natrijev klorid. Dobivaju se elektrolizom talina njihovih soli, a ne vodenih otopina jer imaju vrlo negativne redukcijske elektrodne potencijale pa se u tom slučaju na katodi događa

redukcija vode. Zbog slabe metalne veze (jedan elektron u zadnjoj elektronskoj ljusci), pripadaju najmekšim metalima i imaju vrlo niska tališta. Imaju malu gustoću i tvrdoću, dok je kristalna rešetka alkalijskih metala volumno centrirana kocka.

1.2.1. Natrij

Natrij je vrlo reaktivan, srebrno-bijele boje, mekan metal koji se reže nožem. Pri temperaturama iznad vrelišta dio natrijevih para nalazi se u obliku dvoatomnih molekula Na_2 . Tipična metalna svojstva očituju se u velikoj toplinskoj i električnoj vodljivosti, malom specifičnom električnom otporu i niskoj elektronegativnosti koja je uzrok vrlo velikoj kemijskoj reaktivnosti. Zapaljiv je, a kod gorenja zrači intenzivnu, skoro monokromatsku, žutu svjetlost. Burno reagira s vodom, čak i s ledom, zbog čega se mora čuvati u petroleju. Ima izrazita redukcijska svojstva i lako reagira s brojnim anorganskim i organskim tvarima stvarajući različite spojeve i legure. Natrij se ne otapa u mineralnim uljima i ugljikovodicima, već s njima stvara koloidne disperzije. Ioni Na^+ u izvanstaničnim tjelesnim tekućinama imaju važnu ulogu u organizmu jer održavaju osmotsku ravnotežu. Natrij se u organizam unosi hranom kao natrijev klorid, a njegovu koncentraciju u tijelu reguliraju bubrezi. Pomanjkanje iona Na^+ u krvnoj plazmi, hiponatrijemija, uzrokuje dehidriranje, acidozu i atrofiju tkiva, a povećanje koncentracije iona Na^+ , hipernatrijemija, dovodi do stvaranja edema i hipertenzije (stanja povišenog krvnog tlaka). Natrij u svim spojevima ima oksidacijski broj +1 i izuzetno je monovalentan. Natrijev hidrogenkarbonat (NaHCO_3), natrijev hidroksid (NaOH), natrijev karbonat (Na_2CO_3), natrijev klorid (NaCl), natrijev nitar (NaNO_3), natrijev sulfat (Na_2SO_4) te natrijev peroksid (Na_2O) samo su neki od važnih spojeva natrija.

1.2.2. Kalij

Kalij je element grupe alkalijskih metala, vrlo mekan, srebrno-bijele boje. Stabilan je na suhom zraku i kisiku, ali u prisutnosti vlage brzo reagira s kisikom dajući hidroksid. S vodom reagira burno razvijajući vodik koji se pri tom zapali. Vrlo je reaktivan, te reducira čak i okside bora i silicija. Pokazuje slabu radioaktivnost, jer se u kaliju nalaze vrlo male količine (0,01%) radioaktivnog izotopa K^{40} . U spojevima je vrlo rasprostranjen na zemlji u mnogim stijenama

i mineralima kao: ortoklas, karnalit, silvin, kainit, kizerit. Služi za proizvodnju nekih legura i za fotoelektrične ćelije. Kalij se nalazi u sastavu svih biljnih i životinjskih organizama. U organizmu čovjeka kalij se nalazi pretežno u stanicama gdje igra ulogu aktivatora nekih enzima. U organizmu odraslog čovjeka ima ukupno 100 – 200g kalija. Njegova razina u krvi je konstantna, regulira je kora nadbubrežne žlijezde, a utječe osobito na rad srčanog mišića i na podražljivost živčanog sustava. Smanjena koncentracija kalija u krvi, hipokalijemija, uzrok je tzv. familijarne periodične paralize, dok povišena koncentracija u krvi, hiperkalijemija, oštećuje rad srčanog mišića. Čovjek kalij prima uglavnom biljnom hranom. Kalijev klorid (KCl), kalijev jodid (KI), kalijev bromid (KBr), kalijev sulfat (K_2SO_4), kalijev karbonat (K_2CO_3) samo su neke od velikog broja soli koje gradi, a koje su većinom lako topljive u vodi.^{3;4}

§ 2. Određivanje natrija i kalija u oralnim rehidracijskim pripravcima (ORS)

2.1. Uvod

Ravnoteža tekućine i elektrolita je vrlo važna i bitna za dobro zdravlje u svim dobnim skupina. Pri dehidraciji se javlja proljev, gastroenteritis, kolera i dizenterija jer tijelu nedostaje vode i elektrolita. ORT (oralna rehidracijska terapija) je jednostavan tretman koji uključuje unošenje otopina soli i šećera koji osigurava obnavljanje elektrolita i vode (Oralne rehidracijske soli - ORS). Natrij je glavni kation u izvanstaničnoj tekućini. On regulira količinu vode u tijelu te je kritičan za stvaranje električnih signala. Isto tako, kalij je glavni kation koji se nalazi unutar stanice. Potreban je za regulaciju srčanog ritma i funkcije mišića. Natrijeva i kalijeva koncentracija u ORS mora biti dovoljna za zamijenu njihovog gubitka i ispravka hipernatrijemije/hipokalijemije, ali ne toliko visoka da uzrokuje ili pogorša hipernatrijemiju / hiperkalijemiju koja može dovesti do smrti.⁵

2.2. Referentni raspon

Plamena fotometrija je grana atomske emisijske spektroskopije.⁶ Pogodna je za kvantitativno i kvalitativno određivanje nekoliko kationa, posebno za metale koji se lako prevode u višu razinu energije pri relativno niskoj temperaturi plamena (uglavnom Na, K, Ca, Rb, Cu, Ba, Cs). Jednostavna metoda plamene fotometrije je korisna za određivanje natrija i kalija u oralnom rehidracijskom prahu.

2.2.1. Referentni raspon za natrij

Serum - 136-145mM

CSF - 130 - 150 mM

Znoj - 10 - 40 mm

Urin (ovisi unos) - 40 - 220 mmol / dan

Hiponatrijemija (spuštena plazma $[\text{Na}^+]$) i hipernatrijemija (podignuta plazma $[\text{Na}^+]$) su povezane s različitim bolestima. Precizno mjerenje $[\text{Na}^+]$ u tjelesne tekućine je izuzetno važna u dijagnostici.

Glavni kation izvanstanične tekućine je natrij. Tipična dnevna količina sadrži 130-280 mmol (8-15 g) natrijevog klorida. Neophodna količina/potražnja tijela je 1-2 mmol po danu, pri čemu se višak izlučuje putem bubrega, u mokraći.

2.2.2. Referentni raspon za kalij

Serum - 3,5 - 1mM

CSF - oko 70% seruma

Znoj - 4-9.7 mm (muškarci), 7.6 - 15.6mM (žene)

Urin (ovisi unos) - 25 - 125 mmol / dan

Eritrociti (unutarstanični) - 105

Hipokalijemija (spuštena plazma $[\text{K}^+]$), hiperkalijemija (povećana plazma $[\text{K}^+]$) i hiperkalurija (povećana izlučivanje K^+ iona mokraćom) ponovno su indikativni za razne uvjete i klinička mjerenja $[\text{K}^+]$, koja su također od velikog značaja. Prema tome, važno je odrediti količinu natrija i kalija, prisutnog u OR prahu.

Kalij je glavni kation unutar stanice. Prosječna stanica u sebi ima 140 mm K^+ , ali samo oko 10 mM Na^+ . K^+ polako difundira iz stanice tako da membranska pumpa (Na^+/K^+ - ATPaze) kontinuirano transportira K^+ u stanice protiv koncentracijskog gradijenta. Ljudsko tijelo zahtijeva oko 50 do 150 mmol/dan.

2.3. Materijali

Instrument- Elico Plamen Fotometar CL22D⁷

Kemikalije - natrijev klorid, kalijev klorid, ORS prahovi (šest različitih uzoraka)

ORS vrećice su analizirani kako bi se odredio sadržaj natrija i kalija)



Slika 1. Prikaz instrumenta za plamenu emisijsku spektroskopiju

ORS Uzorak 1 Cipla (oralna rehidracijska Sol): 21 g

Sastav: Natrijev klorid-2.6 g, kalijev klorid-1,5 g, natrijev citrat-2,9 g,
Dekstroza- 13.5 g

ORS uzorak 2 ELECTRAL (oralna rehidracijska Sol): 21,8 g

Sastav: Natrijev klorid-2.6 g, kalijev klorid-1,5 g, natrijev citrat-2,9 g,
Dekstroza- 13.5 g

ORS uzorak 3 WALYTE (oralna rehidracijska Sol): 21 g

Sastav: Natrijev klorid-2.6 g, kalijev klorid-1,5 g, natrijev citrat-2,9 g,
Dekstroza- 13.5 g

ORS uzorak 4 Govt. ORS: 20.5 g

Sastav: Natrijev klorid-2.6 g, kalijev klorid-1,5 g, natrijev citrat-2,9 g,
Dekstroza- 13.5 g

ORS Uzorak 5 ELECTROBION (oralna rehidracijska Sol): 4,2 g

Sastav: Natrijev klorid-0,52 g, kalijev klorid-0,30 g, natrijev citrat- 0,58 g,
Dekstroza- 2,7 g,

ORS Uzorak 6-Halewood Govt. ORS: 4.2 g

Sastav: Natrijev klorid-0,52 g, kalijev klorid-0,30 g, natrijev citrat- 0,58 g,

Dekstroza- 2,7 g

2.4. Metode

2.4.1. Priprava standardne otopine natrijevog klorida

Izvaže se 2,54 g natrijeva klorida i otopi u vodi te nadopuni do 1L s dva puta većom količinom destilirane vode. Volumen od 1 mL otopine je razrijeđen do 10 mL s dvostrukom količinom destilirane vode da se dobije koncentracija od $105 \mu\text{g L}^{-1}$ (tj, 100 ppm).

2.4.2. Priprava standardne otopine kalijevog klorida

Masa od 1,907 g kalijevog klorida otopi se u vodi te nadopuni do 1 L s dvostrukom količinom destilirane vode. 1 ml otopine je razrijeđena do 10 mL s dvostrukom kol destilirane vode da se dobije koncentracija od $105 \mu\text{g L}^{-1}$ (tj, 100 ppm).

2.4.3. Priprema uzorka ORS otopina za analizu natrija

Izvaže se 0,205 g OR praha te otopi u 100 ml dvostruko destilirane vode kako bi se dobila koncentracija od $105 \mu\text{g L}^{-1}$ (tj, 100 ppm) natrija.

2.4.4. Priprema uzorka ORS otopina za analizu kalija

Masa od 0.266 g OR praška se otopi u 100 ml dvostruko destilirane vode kako bi se dobila koncentracija od $105 \mu\text{g L}^{-1}$ (tj, 100 ppm) kalija.

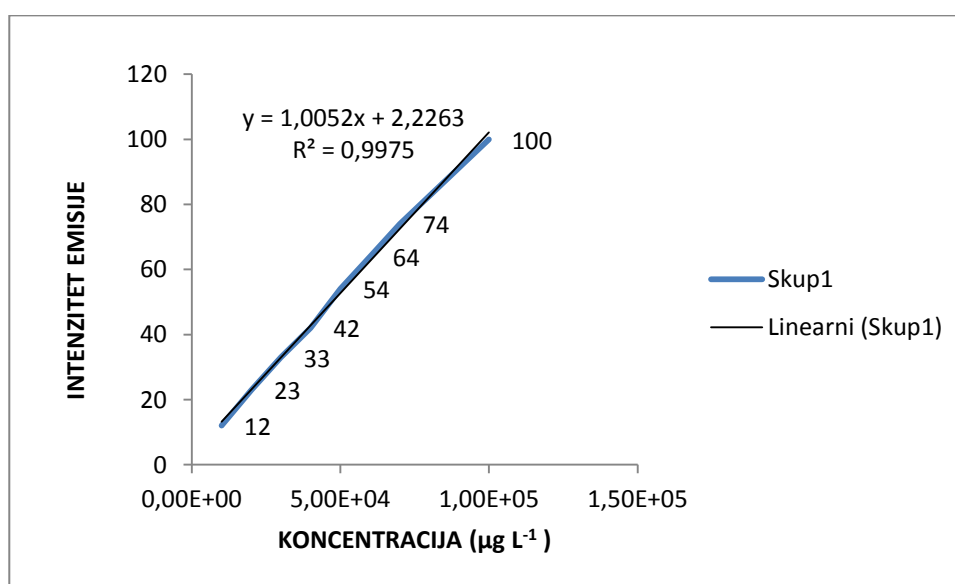
2.4.5. Izgradnja standardne krivulje za natrij

Standardna otopina natrijevog klorid ($105 \mu\text{g L}^{-1}$) se razrijedi do koncentracija 10^4 , 2×10^4 , 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 , 6×10^4 i $7 \times 10^4 \mu\text{g L}^{-1}$. $105 \mu\text{g L}^{-1}$ je bio postavljen kao najviša koncentracija u plamenoj fotometriji. Uzeti su mali alikvoti svake koncentracije, te se mjerio njihov intenzitet plamena (Tablica 1). Standardna krivulja prikazana je grafički, pri čemu su

uzete koncentracije smještene na apscisi, a intenzitet plamena na ordinati. Dobivena je ravna linija R^2 vrijednosti 0,9975 (prikazano na Slici 2).

Tablica 1. Intenzitet plamena Na u standardnoj otopini NaCl pri različitim koncentracijama

KONCENTRACIJA ($\mu\text{g L}^{-1}$)	INTENZITET EMISIJE
10^4	12
2×10^4	23
3×10^4	33
4×10^4	42
5×10^4	54
6×10^4	64
7×10^4	74
10^5	100



Slika 2. Standardna krivulja za natrij, prema podacima iz Tablice 1

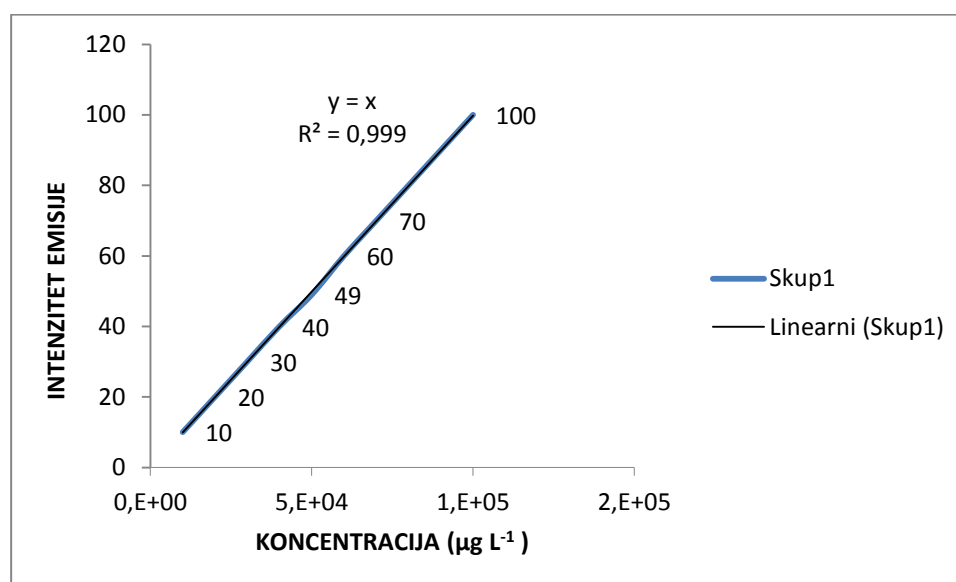
2.4.6. Izgradnja standardne krivulje za kalija

Standardna otopina kalijevog klorida ($105 \mu\text{g L}^{-1}$) razrijedi se do koncentracija 10^4 , 2×10^4 , 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 , 6×10^4 i $7 \times 10^4 \mu\text{g L}^{-1}$. Standardna koncentracija $105 \mu\text{g L}^{-1}$ je postavljena

kao najviša koncentracija u plamenoj fotometriji. Intenzitet plamena je izmjeren malim alikvotima svake koncentracije (Tablica 2). Standardna krivulja prikazana je grafički, pri čemu su uzete koncentracije smještene na apscisi, a intenzitet plamena na ordinati. Dobivena je ravna linija R^2 vrijednosti 0,999 (prikazano na Slici 3).

Tablica 2. Intenzitet plamena K u standardnoj otopini KCl pri različitim koncentracijama

KONCENTRACIJA ($\mu\text{g L}^{-1}$)	INTENZITET EMISIJE
10^4	10
2×10^4	20
3×10^4	30
4×10^4	40
5×10^4	49
6×10^4	60
7×10^4	70
10^5	100



Slika 3. Standardna krivulja za kalij, prema podacima iz Tablice 2

2.5. Rezultati i rasprava

Koncentracija natrija i kalija izračunata je iz intenziteta plamena ORS otopina 6 različitih uzoraka (Tablica 3). Iako je sadržaj NaCl i KCl u šest ORS vrećica/uzoraka bio isti, utvrđeno je da je, u odnosu na ostale, uzorak Cipla sadržavao više natrija ($194.76 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$) od drugih ORS uzoraka/prahova (Halewood sadrži $190.78 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$, Electral $162.92 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$, Govt.uzorak $161.93 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$, Walyte $160.93 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$, Electrobion $154.96 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$ natrija). Slično, Cipla sadrži veću količinu kalija ($158 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$) u odnosu na druge (Electrobion sadrži $105 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$, Govt.uzorak $102 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$, Electral $96 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$, Walyte $87 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$, Halewood $86 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$ kalija).⁸

Tablica 3. Izračun koncentracija Na i K u uzorku ORS

Parameters	Cipla	Electral	Walyte	Govt. uzorak	Electrobion	Halewood (Govt)
Intenzitet plamena Na (y)	198	166	164	165	158	194
Intenzitet plamena K (y')	158	96	87	102	105	86
Konc. Na u $\mu\text{g/L}$ (x)*	$194,76 \times 10^3$	$162,92 \times 10^3$	$160,93 \times 10^3$	$161,93 \times 10^3$	$154,96 \times 10^3$	$190,78 \times 10^3$
Konc. K u $\mu\text{g/L}$ (x')**	158×10^3	96×10^3	87×10^3	102×10^3	105×10^3	86×10^3

* $y=1,0052x + 2,2263$

* $y'=x$

2.6. Zaključak

Plamena fotometrijska metoda je relativno slobodna od smetnji uzrokovanih prisutnošću drugih elementa u uzorku. Na primjeru određivanja Na i K u oralnim rehidracijskim terapeutima pokazane su prednosti metode za analizu u niskom koncentracijskom području.

§ 3. Literaturna vrela

1. A. Nayak, V. Sivajothi, "Comparison and study of sodium and potassium content in ORS powders by flame photometric method" , World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences, 16. Oct 2014., Volume 3, Issue 12, 869-875.
2. Skoog, West, Holler, Osnove analitičke kemije, 6. izd, ŠK , Zagreb, 1999
3. C. E. Housecroft, A. G. Sharpe, Inorganic Chemistry, 4. izd., Pearson Edu., Edinburgh, 2012.
4. D. F. Shriver, P. W. Atkins, C. H. Langford, Inorganic Chemistry, 2. izd., Oxford University Press, Oxford 1998.
5. Naqvi II, Ikram S, Farrukh MA. J Biol Chem 2004, 4 Ed : 510-514.
6. Chatwal RG, Anand. KS, Instrumental Methods of Chemical Analysis, Himalaya Publishing House; 2005: pp. 2.367-2.388
7. <http://www.elico.co/products.php?c=6&p=23> (5. 09. 2016.)
8. Mishra P, Mahapatra MK, Comparison of sodium and potassium content in ORS powders by Flame photometric method, RJPBCS, 2011; 2 (3):262-267