

ANALYTICKÉ METÓDY NA STANOVENIE DUSITANOV

KATARÍNA LENGHARTOVÁ^a, LUKÁŠ LAUKO^b
a ERNEST BEINROHR^{a,b}

^a Katedra chémie, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava, ^b Ústav analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
katarinalenghart@gmail.com

Došlo 23.1.14, prijaté 23.5.14.

Kľúčové slová: dusitany, výskyt, účinky, metódy stanovenia

Obsah

1. Úvod
2. Výskyt dusitanov a ich účinky na zdravie
3. Analytické metódy na stanovenie dusitanov
 - 3.1. Titračné metódy
 - 3.2. Spektrálne metódy
 - 3.3. Elektrochemické metódy
 - 3.4. Separačné metódy
4. Záver

1. Úvod

Dusitany sú prirodzenou zložkou životného prostredia ako súčasť kolobehu dusíka v prírode. Vo zvýšených koncentráciách sa vyskytujú v pôde ako dôsledok hnojenia, vznikajú z odpadov zo živočíšnej výroby a prechádzajú do vody i rastlín. Používajú sa aj ako aditívne látky v potravinárskom priemysle. Z pohľadu účinku na ľudské zdravie možno hovoriť o určitom kontraste: Na jednej strane kvôli toxicite na ľudský organizmus patria medzi ostro sledované aditívne látky a na strane druhej sa vyznačujú terapeutickými vlastnosťami predovšetkým u ochorení kardiovaskulárneho systému. Spôľahlivé stanovenie dusitanov predstavuje preto dôležitý predpoklad pre sledovanie výskytu a účinku týchto látok. Práca je zameraná na prehľad analytických metód na stanovenie dusitanov v rôznych typoch vzoriek.

2. Výskyt dusitanov a ich účinky na zdravie

Dusitany vznikajú vo vode ako prechodný člen v dusíkovom cykle, najčastejšie pri biochemickej redukcii dusičnanov, alebo biochemickej oxidácii amoniakálneho dusíka. Spravidla teda sprevádzajú dusičnany a amoniakálny dusík. Obsah dusitanov sa obvykle udáva ako obsah dusitanového dusíka (N-NO_2) v jednotkách mg l^{-1} . Koncentrácia dusitanov v podzemných a povrchových vodách je spravidla veľmi malá (stotiny až desatiny mg l^{-1}), vyššia býva v odpadových splaškových vodách (jednotky až desiatky mg l^{-1}). Vyhláška ministerstva zdravotníctva SR povoľuje najvyššiu koncentráciu dusitanov v pitných vodách $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ (cit.¹). Najdôležitejšími bodovými zdrojmi dusitanov vo vyspelých priemyselných krajinách sú dnes nitrifikujúce čistiare odpadových vôd (ČOV). Tu vznikajú dusitany ako medziprodukt pri nitrifikácii – oxidácii amoniaku na dusičnany. Pri neúplnej nitrifikácii môže vzniknúť vysoká koncentrácia dusitanov na odtoku z nitrifikujúcej ČOV. Ďalším potenciálnym zdrojom, čiastočne už aj dnes a stále viac v blízkej budúcnosti, môžu byť denitrifikujúce ČOV. V týchto vznikajú dusitany ako medziprodukt pri redukcii dusičnanov na molekulový dusík. Ďalšími zdrojmi znečistenia vody dusitanmi, ako aj dusičnanmi, je poľnohospodárstvo (prírodné a umelé hnojivá) a priemyselný odpad (anorganický dusík viazaný v zlúčeninách kovov). Niektoré priemyselné odpadové vody sú na dusitany veľmi bohaté. Sú to napr. odpadové vody z výroby farbív, zo strojárnskych závodov, kde sa používajú kvapaliny na chladenie obrábacích strojov. Tieto kvapaliny obsahujú dusitany ako inhibítory korózie. Dusitany sú súčasťou aj niektorých rozmrazovacích kvapalín. Hlavným zdrojom dusitanov v povrchových vodách je zvýšená koncentrácia amoniaku a to hlavne cez leto. Pri povrchových a odpadových vodách a pri kontrole biologických čistiarní je stanovenie dusitanov súčasťou dusíkovej bilancie.

Dusitany sú taktiež súčasťou ľudskej stravy. Sú prítomné v mnohých druhoch zeleniny a používajú sa ako konzervačné látky. Dusitan sodný (E250) a dusitan draselný (E249) patria medzi ostro sledované aditívne látky, čo sa týka účinku na ľudské zdravie. Pre mäsiarsky a hydinný priemysel je dusitan sodný veľkým prínosom, pretože umožňuje výrobu produktov s jedinečnými farbami, chuťou údenej potraviny a s vynikajúcou stabilitou pri skladovaní nakoľko majú antibakteriálne, antioxidačné vlastnosti a stabilizujú farbu a chuť. Obsah dusitanov v niektorých bežných potravinách (mäsové výrobky, zelenina) zakúpených v piatich supermarketoch v USA v roku 2009 sa pohyboval v rozmedzí $0,01$ až 140 mg kg^{-1} (cit.²).

Vo všeobecnosti ľudia denne spotrebujú 1,2–3,0 mg dusitanov. Pritom sliny predstavujú približne 93 %, zatiaľ čo potraviny predstavujú len veľmi malú časť z celkového denného príjmu dusitanov. Je to v dôsledku chemickej redukcie dusičnanov na dusitany baktériami prítomnými v ústnej dutine. Obsah dusitanov v mäsových produktoch by nemal prekročiť 6,4 mg kg⁻¹ a 1,7 mg kg⁻¹ v mliečnych výrobkoch.

Dusitany môžu vznikajúť v pozinkovaných oceľových distribučných potrubíach aj chemicky z amoniaku účinkom baktérii *Nitrosomonas* alebo v prípade, ak sa používa na zvyškovú dezinfekciu chloraminácia a tento proces nie je dostatočne kontrolovaný³.

Dusitany sú dôležitým indikátorom znečistenia vôd⁴. Bolo preukázané⁵, že krmivo a znečistená voda obsahujúca vysoké množstvo dusičnanov predstavujú jeden z najväčších zdrojov dusitanov u zvierat určených na produkciu potravín.

Vysoké koncentrácie dusitanov spôsobujú predovšetkým u kojenčov vo veku do 3 mesiacov methemoglobinémiu^{3,4}. Vytvárajú totiž z hemoglobínu jeho oxidovanú formu methemoglobín, ktorý nie je schopný prenášať kyslík z pľúc do tkanív. Znížená schopnosť prenosu kyslíka sa klinicky prejaví a keď koncentrácia methemoglobínu dosiahne 10 a viac percent normálnej koncentrácie hemoglobínu nastane vyššie uvedený klinický stav methemoglobinémie, ktorý sa prejavuje cyanózou až dusením a môže skončiť dokonca smrťou. Tento účinok je vyvolaný predovšetkým zvýšenou koncentráciou dusitanov v pitnej vode.

Okrem toho sa v kyslom prostredí gastrointestinálneho traktu živočíšnych organizmov predpokladá možnosť transformácie dusitanov na potenciálne karcinogénne *N*-nitrozoamíny^{6,7} a najnovšie poznatky upozorňujú aj na možný vznik rakoviny pľúc zapríčinennej inhaláciou cigaretového dymu. Dusitany vykazujú navyše mutagénne vlastnosti, ktoré zapríčínajú morfológické zmeny³.

Napriek týmto toxickým účinkom boli dusitany v roku 1980 navrhnuté ako látky dôležité pre ľudské zdravie a stali sa súčasťou liečiv kardiovaskulárnych ochorení.

Mnoho organických dusitanov má nízku orálnu biologickú dostupnosť, pretože sa vo veľkej miere metabolizujú v pečeni. Anorganické dusitany sú hydrofilné soli, ktoré sa ľahko vstrebávajú v hornej časti gastrointestinálneho traktu, pričom sa 65 % vylučuje obličkami a 25 % sa sústreďuje v slinných žľazách. Osud zvyšných 10 % však zostáva neobjasnený⁸.

Mechanizmus terapeutického účinku dusitanov spočíva v redukcii dusitanov na oxid dusnatý za určitých fyziologických podmienok ako je pH, koncentrácia kyslíka, či prítomnosť niektorých proteínov. Jedným zo základných fyziologických účinkov oxidu dusnatého je vazodilatačný efekt, pričom zohráva dôležitú úlohu v regulácii krvného prietoku a krvného tlaku⁹. Hlavný účinok dusitanov sa uplatňuje pri liečbe chorobných stavov charakterizovaných vaskulárnou dysfunkciou a ischemic-

kým poškodením^{10,11}, na reguláciu prietoku krvi a tkanív alebo možné uplatnenie pri úkonoch, ako je transplantácia orgánov¹¹. Terapeutický efekt dusitanov ďalej spočíva v prevencii spazmu mozgových ciev, v zlepšení pľúcnej ventilácie pri respiračných syndrómoch, funkčnej ochrane transplantovaných orgánov, či v obnove endotelálnych buniek a adaptácii na chronickú hypoxiu¹².

3. Analytické metódy na stanovenie dusitanov

Na stanovenie dusitanov sa používajú rôzne analytické metódy, ako je odmerná analýza pre vyššie obsahy, spektroskopické, elektrochemické a separačné metódy pre nižšie koncentrácie.

3.1. Titračné metódy

Titračné stanovenie dusitanov je založené na oxidácii dusitanov síranom ceričitým¹³, alebo manganistanom draselným¹⁴ v kyslom prostredí na dusičnan. Keďže sa dusitany v kyslom prostredí rýchlo rozložia, titruje sa okyslený a teplý roztok manganistanu roztokom vzorky obsahujúcej dusitany až do odfarbenia titrovaného roztoku. Je to priama, ale pomerne málo presná metóda.

Pri nepriamej metóde sa dusitany najprv oxidujú nadbytkom okysleného roztoku manganistanu a nespotrebovaný manganistan sa stanoví jodometricky¹⁵.

3.2. Spektrálne metódy

Spektrofotometria

Za najrozšírenejšiu metódu na stanovenie dusitanov možno považovať spektrofotometrické stanovenie so sulfanilamidom a dihydrochloridom *N*-(1-naftyl)-1,2-diaminoetánu, ktorá je podľa súčasnej legislatívy aj normovanou metódou¹⁶. Metóda je založená na diazotačnej reakcii dusitanov so sulfanilamidom v kyslom prostredí kyseliny fosforečnej. Táto diazonióvá soľ tvorí s dihydrochloridom *N*-(1-naftyl)-1,2-diaminoetánu ružové sfarbenie. Absorbancia sa meria pri 540 nm. Ak sa použijú kyvety s hrúbkou 40 mm, detekčný limit tejto metódy sa pohybuje v rozmedzí od 3 do 7 µg l⁻¹ a možno stanoviť dusitany až do koncentrácií 800 µg l⁻¹. Nevýhodou tejto metódy je, že vyžaduje starostlivú kontrolu pH a produkty vyfarbovacej reakcie sú karcinogénne.

Táto známa Griessova reakcia bola použitá aj v spektrofotometrickom mikroteste v kombinácii s mikroextrakciou na kvapalnej fáze. Bola dosiahnutá medza detekcie 1,5 µg l⁻¹, opakovateľnosť 3,5 % a reprodukovateľnosť 10,6 %. Technika prináša výrazné zníženie spotreby činidiel a škodlivého odpadu⁴.

Sreekumar a spol.¹⁷ predstavili jednoduchú a rýchlu spektrofotometrickú metódu založenú na jednoduchej diazotačnej reakcii *p*-nitroanilínu (PNA) a sulfanilamidu (SA) s etylacetoacetátom (EAA) ako kopulačným činidlom. Reagenty PNA a SA sú diazotované v kyslom prostredí a kopulačnou reakciou s EAA vzniká vo vode rozpustné

alkalické farbivo, ktoré dáva absorpčné maximum pri vlnovej dĺžke 507 a 356 nm. Spektrofotometrická metóda vychádzajúca z reakcie kyseliny sulfanilovej s kopulačným činidlom metylantranilátom¹⁸ bola úspešne použitá na stanovenie dusitanov vo vodách, pôdných vzorkách a vo farmaceutických prípravkoch. Rozsah linearít pre túto metódu je 0,2–8 mg l⁻¹, medza detekcie 0,93 mg l⁻¹ a medza stanovenia 2,82 mg l⁻¹. Navrhnutá metóda je rýchla, jednoduchá, vysoko citlivá a vyznačuje sa farebnou stálosťou meraného roztoku viac ako 4 h.

Dusitany a dusičnany boli súčasne stanovené v zelenine a mäsových produktoch aplikáciou prietokovej injekčnej analýzy (FIA) v kombinácii s novým typom spektrofotometrickej detekcie¹⁹. Metóda je založená na redukcii dusičnanov a dusitanov na oxid dusný a následnej reakcii s dvojmocným železom a tiokyanátom v kyslom prostredí za vzniku komplexu [Fe(SCN)(NO)]⁺. Oxid dusný vzniká v dvoch krokoch, najprv redukciou dusičnanov na dusitany v kadmiovo-medenej redukčnej kolóne. V druhom kroku sa v prostredí kyseliny sírovej redukujú dusitany na oxid dusný. Automatizovaná spektrofotometrická metóda v kombinácii s prietokovou injekčnou analýzou bola vyvinutá na individuálne i súčasne stanovenie dusitanov a dusičnanov. Modifikovaná verzia Griess-Ilosvayovej diazokopulačnej reakcie bola použitá na priame stanovenie dusitanov²⁰. Absorbancia vzniknutého farebného azokomplexu bola meraná pri 543 nm. Meraný koncentračný rozsah pre dusitany bol 0,05–1,6 mg l⁻¹, medza detekcie 0,022 mg l⁻¹ a reprodukovateľnosť 0,96 %. Metóda bola aplikovaná na vzorky pôd. Frekvencia vzorkovania bola až 35–40 vzoriek za hodinu.

Zhang, a spol.²¹ využili extrakciu na tuhej fáze (SPE) prepojenú so spektrofotometrickou detekciou na stanovenie dusitanov a dusičnanov v povrchovej a morskej vode na nanomolárnej úrovni. Azozlúčenina vzniknutá z dusitanov bola kvantitatívne extrahovaná na SPE sorbente a následne eluovaná a detegovaná v kapilárnej cele dĺžky 16 cm. Analýza prebiehala plne automaticky a metóda bola vhodná aj na použitie v teréne. Postup je použiteľný aj na stanovenie ďalších látok ako sú fosforečnany a kremičitany v morskej vode.

Na stanovenie dusitanov v morskej vode možno použiť aj sekvenčnú injekčnú analýzu (SIA)²². Stanovenie je založené na Griessovej reakcii a vzniknutá azozlúčenina bola kvantitatívne adsorbovaná na sorbente Sep-Pak C-18. Po vymytí z kolóny sa farbivo meralo pri vlnovej dĺžke 543 nm. Touto metódou boli analyzované reálne vzorky rýchlosťou približne štyri vzorky za hodinu. Na stanovenie dusitanov a dusičnanov bol vyvinutý aj viacčerpádlový prietokový systém s použitím Griess-Ilosvayových reagentov²³. Jednou z hlavných výhod vyvinutej metodiky je nízka spotreba reagentov v porovnaní s FIA metódou. K ďalším výhodám patrí jednoduchosť, robustnosť a univerzálnosť systému. Spektrofotometrické stanovenie v kombinácii s prietokovou injekčnou analýzou bolo použité aj na stanovenie dusitanov, ktoré je založené na katalytickom účinku dusitanov na oxidačno-redukčnú reakciu medzi sulfonazo(III) a bromičnanom draselným v kyslom

prostredí²⁴. Na podobnom princípe je založená aj metóda vyvinutá Yuem a spol.²⁵. Ide takisto o využitie katalytického účinku dusitanov s tým rozdielom, že na získanie farebnej zlúčeniny bola použitá kryštalová violet. Absorbancia bola meraná pri vlnovej dĺžke 610 nm a medza stanovenia tejto metódy bola 1 µg l⁻¹. Týmto spôsobom bolo analyzovaných 32 vzoriek za hodinu. Metóda je vhodná na stanovenie dusitanov v prírodných vodách.

Veľmi citlivá a selektívna kinetická metóda bola vyvinutá na stanovenie stopových koncentrácií dusitanov založená na katalytickom účinku oxidácie perfenazínu s bromičnanom v prostredí kyseliny fosforečnej²⁶. Metóda bola použitá na analýzu dažďovej vody, znečistených a odpadových vôd. Použitie sodnej soli kyseliny 4-amino-5-hydroxynafalén-2,7-disulfónovej (AHNDS) v prostredí fosforečnanového tlmivého roztoku s pH 7,5 sa ukázalo ako perspektívna alternatíva na stanovenie stopových koncentrácií dusitanov v environmentálnych a biologických vzorkách²⁷. Metóda bola aplikovaná na stanovenie dusitanov vo vzorkách rôznych typov vôd, v pôde a vo vzorkách ľudských slín. Vyznačuje sa veľmi dobrou stabilitou vzniknutého farebného komplexu (až 6 hodín) a taktiež si nevyžaduje predúpravu reálnych vzoriek.

Afkhami a spol. predstavili vo svojich publikáciách^{28–30} spektrofotometrické stanovenie dusitanov založené na ich reakcii s *p*-nitroanilínom v prítomnosti difenylamínu aplikáciou extrakcie s využitím teploty zákalu micelárnych roztokov (CPE). Na prekoncentráciu dusitanov vo vzorke bola použitá neiónová povrchovo aktívna látka Triton-100. Navrhnutá metóda bola úspešne aplikovaná na stanovenie dusitanových iónov vo vodovodných vzorkách, v moči a vo vzorkách odpadových vôd.

Autori publikácie³¹ demonštrujú 9 spektrofotometrických metód založených na nových reakciách pre stanovenie stopových koncentrácií dusitanov v environmentálnych vzorkách. Cieľom bola náhrada toxických činidiel za menej toxické, resp. výrazné zníženie množstva nebezpečných produktov. Navrhované metódy využívajú dve skupiny zlúčenín a to fenoxazíny a sulfónamidy v prostredí kyseliny chlorovodíkovej. Metódy boli založené na oxidácii sulfanilamidu, sulfadoxínu alebo sulfametoxazolu s dusitanmi v kyslom prostredí a následnou kopuláciou s fenoxazínom, 2-chlórfenoxazínom alebo 2-trifluorometylfenoxazínom za vzniku červených derivátov so stabilitou približne 4 hodiny a s maximálnou absorbanciou v rozsahu 530–540 nm. Metódy boli aplikované na stanovenie dusitanov vo vzorkách zo životného prostredia. Opísané metódy sa vyznačujú výhodami, ako sú jednoduchosť, citlivosť, reprodukovateľnosť a v neposlednom rade zníženie množstva toxického odpadu. Al-Okab a Syed³² aplikovali vyššie uvedené fenoxazíny aj v reakcii s novými elektrofilnými kopulačnými činidlami cisapridom a metoklopramidom. Oxidácia týchto činidiel s dusitanmi prebiehala za podobných podmienok, teda v prostredí kyseliny chlorovodíkovej. Červeno sfarbená zlúčenina s absorpčným maximom v rozmedzí 520–530 nm bola stabilná 3 hodiny.

V roku 2012 bol predstavený multiparametrový automatizovaný monitorovací systém pre sírany, dusitany a dusičnany v pitnej a odpadovej vode, založený na sekvenčnej injekčnej analýze (SIA)³³. Pre stanovenie dusitanov bola použitá modifikovaná Griess-Ilosvayová metóda. Medza detekcie pre dusitany bola na úrovni $2,2 \mu\text{g l}^{-1}$ a medza stanovenia $7,3 \mu\text{g l}^{-1}$. Vyvinutá metóda sa vyznačuje nízkou spotrebou reagentov.

Na úspešné stanovenie dusitanov v reálnych vzorkách minerálnych vôd, vody z vodovodu, dažďovej vody a morskej vody bola použitá spektrofotometrická metóda založená taktiež na Griess-Ilosvayovej reakcii, avšak s použitím nového maloobjemového kapilárneho optického senzora s koncentricky umiestneným obnaženým optickým vláknom, ktoré umožní vznik tlmených vln prenikajúcich do roztoku okolo vlákna. Odozva bola lineárna v koncentračnom rozsahu $0,05\text{--}10 \text{ mg l}^{-1}$ a hodnota medze detekcie bola $0,02 \text{ mg l}^{-1}$ (cit.³⁴).

Hata a spol.³⁵ vypracovali optimálne podmienky pre spektrofotometrické stanovenie stopových koncentrácií dusitanov v environmentálnych vzorkách s *in situ* tvorbou mikrofázy z roztoku vzorky a extrakciou vzniknutého azofarbiva do novej fázy. Touto metódou bola dosiahnutá medza detekcie $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$ dusitanového dusíka.

Fluorimetria

Na monitorovanie dusitanov v mäsových produktoch a v zelenine bola vyvinutá spektrofluorimetrická metóda³⁶ s použitím nového fluorescenčného prekursora 1,3,5,7-tetrametyl-2,6-dikarboxy-8-(3',4'-diaminofenyl)-difluoroboradiaza-s-indacénu (TMDCABODIPY). Za normálnych okolností je jeho fluorescencia veľmi nízka. Keď však reaguje s dusitanmi, vytvorí sa vo vodnom prostredí a izbovej teplote triazol so silnými fluorescenčnými vlastnosťami. Navrhnutá metóda poskytla medzu detekcie $9,7 \text{ ng l}^{-1}$. Ďalšia fluorimetrická metóda³⁷ bola založená na znižovaní fluorescencie proflavínu vplyvom dusitanov.

Nepriama spektrofluorimetrická metóda s použitím nesymetrického rodamínu, vyznačujúceho sa vysokou fluorescenciou, bola aplikovaná na stanovenie dusitanov vo vzorkách vodovodných vôd a vo vodách jazier³⁸. Metóda vychádza z reakcie rodamínu s dusitanmi v kyslom prostredí, pričom dochádza k vytvoreniu nitrózoproduktu, ktorý má oveľa nižšiu fluorescenciu. Intenzita fluorescencie klesá lineárne s koncentráciou dusitanov v koncentračnom rozsahu $0,46\text{--}16 \mu\text{g l}^{-1}$ a medza detekcie je $0,009 \mu\text{g l}^{-1}$.

Wang a spol. demonštrujú vo svojej publikácii³⁹ využitie fluorescencie organických nanočastíc pri stanovení dusitanov vo vodách. Metodika je založená na znížení intenzity fluorescencie („quenching effect“) nanočastíc s obsahom 1-aminopyrénu dusitanmi jednoduchou diazotačnou reakciou. Tieto nanočastice sa vyznačujú širokým excitačným spektrom, ale sú tiež fotochemicky stabilné a vo vode rozpustné. Lineárny kalibračný rozsah tejto aplikácie sa pohyboval v rozmedzí $20\text{--}1400 \mu\text{g l}^{-1}$ a medza detekcie bola $3 \mu\text{g l}^{-1}$.

Plameňová AAS

Plameňová atómová absorpčná spektrofotometria (FAAS) v kombinácii s prietokovou injekčnou analýzou bola taktiež použitá na nepriame stanovenie dusitanov a dusičnanov⁴⁰. Opísaná metóda je založená na oxidácii dusitanov na dusičnany použitím kolóny s oxidom manganitým, kde dochádza k jeho redukcii na Mn(II). Uvoľnené Mn(II) ióny, ktorých koncentrácia je priamo úmerná koncentrácii dusitanov, sú stanovené metódou FAAS. Kalibračná závislosť bola lineárna do koncentrácie dusitanov 20 mg l^{-1} s medzou detekcie $0,07 \text{ mg l}^{-1}$. Metóda je vhodná pre analýzu vôd i potravinárskych vzoriek.

3.3. Elektrochemické metódy

Na stanovenie dusitanov v reálnych vzorkách bolo úspešne použitých aj niekoľko elektrochemických metód. Ampérometrická detekcia s použitím elektródy zo sklovitého uhlíka modifikovanej koloidným zlatom nanometrových rozmerov bola použitá na stanovenie dusitanov vo vode z vodovodu a v pomarančovom džúze⁴¹. Bola dosiahnutá medza detekcie $0,002 \text{ g l}^{-1}$ s linearitou v koncentračnom rozsahu $0,006\text{--}2 \text{ g l}^{-1}$.

Ďalšia ampérometrická metóda na stanovenie dusitanov použila taktiež elektródu zo sklovitého uhlíka, avšak modifikovanú striedajúcimi sa vrstvami železa (III), tetra-(*N*-metyl-4-pyridyl)-porfyrínu a komplexu kobaltu(II) s tetrasulfónovaným ftalokyanínom⁴². Takto modifikovaná elektróda vykazuje vynikajúcu katalytickú aktivitu a stabilitu. Použitím tohto senzora bola dosiahnutá lineárna odozva v rozsahu $9,2\text{--}396 \mu\text{g l}^{-1}$, s citlivosťou $0,37 \mu\text{A l}^{-1} \mu\text{mol}^{-1}$, medzou detekcie $1,8 \mu\text{g l}^{-1}$ a opakovateľnosťou $1,4 \%$. Metóda bola aplikovaná na reálne vzorky vôd, pričom bola dosiahnutá priemerná výtlačnosť $100,1 \pm 0,7 \%$.

Súčasný elektrochemický stanovenie dusičnanov a dusitanov vo vodnom roztoku je možné použitím postriebenej kompozitnej elektródy na báze uhlíka, zeolitu a epoxy lepidla⁴³.

Diferenciálnu pulzovú rozpúšťaciu voltampérometriu použili Fogg a spol.⁴⁴ na stanovenie dusitanov, ktoré sa vo vzorke po reakcii s anilínom a azulénom stanovia na visiačnej ortuťovej kvapkovej elektróde ako azofarbivo. Vzniknuté azofarbivo je možné merať aj adsorpčnou katodickou rozpúšťacou voltampérometriou na grafitovej elektróde v kyslom prostredí. Depozit je katodicky stripovaný v potenciálovom okne od $0,2 \text{ V}$ až $-0,2 \text{ V}$ v prostredí kyseliny chlorovodíkovej. Kalibračná krivka je lineárna v oblasti koncentrácií od $0,05$ do $10 \mu\text{g l}^{-1}$, medza detekcie pre stanovenie dusitanov je $0,007 \mu\text{g l}^{-1}$ pre akumuláciu čas 5 min .

Dusitany možno stanoviť aj v prietokovom systéme priamou elektrochemickou oxidáciou dusitanov na elektrochemicky upravenej sklovitej uhlíkovej elektróde⁴⁵. Autori uvádzajú detekčný limit metódy $3 \mu\text{g l}^{-1}$ a veľmi široký lineárny rozsah.

Kozub a spol.⁴⁶ demonštrovali použitie neupravenej uhlíkovej elektródy na stanovenie dusitanov vo vodnom roztoku pomocou cyklickej, „square wave“ voltampéro-

metrie a chronopotenciometrie. Chronoamperometricky bol dosiahnutý detekčný limit $18 \mu\text{g l}^{-1}$. Sonoelektrochemickým čistením elektródy možno zachovať jej aktivitu.

Metóda nepriameho stanovenia dusitanov je založená na oxidácii jodidov v prostredí kyseliny sírovej dusitanmi na trijodid, ktorý sa potom stanovuje ampérometricky pri potenciáloch 0,2 až 0,3 V. Na meranie sa použili zlaté a platínové makro- aj mikroelektródy⁴⁷. Metóda je relatívne jednoduchá, rýchla a ľahká a môže sa skombinovať s technikou prietokovej injekčnej analýzy (FIA) alebo HPLC.

Hassan a spol. popísali vo svojej publikácii nový polymérny membránový senzor na selektívne potenciometrické stanovenie dusitanov vo vzorkách odpadových vôd a v mäsových produktoch⁴⁸. Metóda zahŕňa reakciu dusitanových iónov s kyselinou sulfanilovou v kyslom prostredí na vytvorenie diazóniovej soli, ktorá kopuláciou s α -naftylamínom tvorí spomínaný 4-sulfofenylazo-1-naftylamín (SPAN). Senzor je založený na použití iónového asociátu tris(batofenanolínu) Ni(II)-SPAN ako meniča iónov v mäčkenej PVC membráne. Odozva je lineárna v koncentračnom rozsahu 0,046 až 460 mg l^{-1} .

Hu a spol.⁴⁹ opísali potenciometrické stanovenie stopových množstiev dusitanov, ktoré využíva ich schopnosť oxidovať metylovú violet v prítomnosti KBr. Potom sa sleduje zmena koncentrácie metylovej violeti v meranom roztoku pomocou iónselektívnej elektródy. Medza detekcie pre túto metódu je $0,76 \mu\text{g l}^{-1}$, pri lineárnom rozsahu 0,8 až $80 \mu\text{g l}^{-1}$.

3.4. Separačné metódy

Iónová chromatografia bola použitá na súčasné stanovenie stopových koncentrácií jodičnanov, chloritanov, chlorečnanov, bromidov, bromičnanov a dusitanov v pitnej vode⁵⁰. Použila sa ionexová kolóna Ion Pac9-HC s vysokou výmennou kapacitou aniónov a vodivostný detektor. Mobilnou fázou bol uhličitan sodný o koncentracii $0,85 \text{ g l}^{-1}$. Postkolónová derivatizácia sa uskutočnila pri teplote 60°C a absorbancia bola meraná pri 450 nm. Detekčné limity metódy sa pohybovali v rozmedzí 0,023 a $2 \mu\text{g l}^{-1}$.

Niedzielski a spol.⁵¹ predstavili súčasné stanovenie amónnych iónov, dusitanov a dusičnanov iónovou chromatografiou s post-kolónovou derivatizáciou Nesslerovým činidlom na detekciu amoniaku. Dusitany a dusičnany sa merali priamo pri vlnovej dĺžke 208 a 205 nm. Dosiahnutá medza detekcie pre dusitany predstavovala $0,1 \text{ mg l}^{-1}$. Metóda bola úspešne aplikovaná na analýzu vzoriek dažďovej vody.

Vysokoúčinná kvapalinová chromatografia s reverznou fázou a detektorom s diódovým poľom bola použitá na stanovenie zvyškových dusitanov a dusičnanov v šunke⁵².

Iónovo-párová HPLC bola použitá na súčasné stanovenie dusitanov a dusičnanov vo vzorkách rosy, dažďa, snehu a vody z jazera získaných z juhovýchodnej Massachusetts⁵³. Chromatografická separácia sa uskutočnila na C18 kolóne s mobilnou fázou obsahujúcou 83 %

tetrabutylamónium hydroxidu o koncentracii $0,78 \text{ g l}^{-1}$ a pufru fosforečnanu sodného o koncentracii $0,33 \text{ g l}^{-1}$ pri pH 3,9 a 17 % acetonitrilu, pri prietoku $0,4 \text{ ml min}^{-1}$. Taktiež metóda HPLC založená na post-kolónovej fotochemickej reakcii a chemiluminiscenčnej detekcii bola vyvinutá a použitá na selektívne stanovenie dusitanov a dusičnanov vo vzorkách rôznych typov povrchových a pitných vôd⁵⁴.

Akyüz a Ata⁵⁵ stanovili dusitany a dusičnany na piko-gramovej úrovni v biologických, potravinárskych a environmentálnych vzorkách kombináciou metód plynovej chromatografie a hmotnostnej spektrometrie (GC-MS) a kvapalinovej chromatografie s fluorescenčnou detekciou (LC-FL). Medza detekcie tejto metódy dosiahla hodnoty $0,02 \text{ ng l}^{-1}$ s použitím GC-MS a aplikáciou LC-FL metódy $0,29 \text{ ng l}^{-1}$ s výťažnosťou takmer 100 %. Obe metódy vykázali vynikajúcu linearitu v koncentračnom rozsahu 2,5 až 100 ng l^{-1} . Postup izolácie, ktorý pozostáva z derivatizácie s 2,3-diaminonafthalénom a extrakcie 2,3-naftotriazolových derivátov s toluénom, zaisťuje lepšiu stabilitu a vyššiu citlivosť a je teda vhodný pre metódy ako GC-MS a LC-FL na stanovenie dusitanov a dusičnanov v rôznych kvapalných a pevných vzorkách. Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že uvedené metódy sú citlivejšie, selektívnejšie a spoľahlivejšie v porovnaní s inými dostupnými metódami pre presné stanovenie stopových koncentrácií týchto iónov.

Kapilárna elektroforéza umožňuje veľmi rýchle a reprodukovateľné stanovenie dusitanov v pitných, povrchových a dažďových vodách. Čas analýzy je do 5 min. Detekčné limity sú na úrovni jednotiek $\mu\text{g l}^{-1}$ (cit.⁵⁶).

Kubán a spol.⁵⁷ predstavili prenosný prístroj na univerzálne stanovenie anorganických kationov a aniónov v environmentálnych vzorkách použitím kapilárnej elektroforézy s bezkontaktnou vodivostnou detekciou. Dusitany a amónne ióny možno určiť na mieste v koncentraciách $10 \mu\text{g l}^{-1}$ v prítomnosti ďalších bežných anorganických iónov pri koncentraciách vyšších o 2 až 3 rády. Zariadenie bolo testované v odľahlej oblasti Tasmánie.

4. Záver

Na stanovenie dusitanov sa v praxi najčastejšie používajú spektrofotometrické metódy hlavne s využitím veľmi selektívnej Griessovej a Ilosvayovej reakcie. Vývoj v tejto oblasti smeruje ku zníženiu, prípadne až k eliminácii toxického odpadu, k zvýšeniu stability vyfarbených roztokov a k automatizácii.

Elektrochemické metódy predstavujú zaujímavú až plnohodnotnú alternatívu k fotometrickým metódam, pričom si vystačia s pomerne jednoduchými a netoxickými reagentami. Ich selektivita je však menšia v porovnaní s fotometrickými metódami. Technická jednoduchosť, dostupnosť a robustnosť elektrochemických metód ich predurčuje hlavne do oblasti bezobslužného monitorovania dusitanov v rôznych aplikáciách ako sú vodné toky, podzemné a iné zdroje pitnej vody a čistiarne odpadových vôd.

Zo separačných metód sa na stanovenie dusitanov najčastejšie používa iónová chromatografia, ktorá sa dokáže popasovať aj s tými najzložitejšími matricami. Je však z uvedených metód technicky i metodicky najnáročnejšia, preto ju má zmysel používať hlavne vtedy, ak je záujem o stanovenie aj ďalších iónov, prípadne ak ide o skutočne zložité vzorky s veľmi nízkymi koncentráciami dusitanov.

Autori ďakujú grantovej agentúre VEGA za finančnú podporu (projekt 1/0419/12).

LITERATÚRA

1. Predpis č. 354/2006 Z.z. *Nariadenie vlády Slovenskej republiky, ktorým sa ustanovujú požiadavky na vodu určenú na ľudskú spotrebu a kontrolu kvality vody určenej na ľudskú spotrebu*, čiastka 124/2006.
2. Sindelar J. J., Milkowski A. L.: *Nitric Oxide* 26, 259 (2012).
3. World Health organization: Nitrate and nitrite in drinking water. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality, WHO/SDE/WSH/07.01/16/Rev/1 (2011).
4. Senra-Ferreiro S., Pena-Pereira F., Lavilla I., Bendicho C.: *Anal. Chim. Acta* 668, 195 (2010).
5. Cockburn A., Brambilla G., Fernández M.-L., Arcella D., Bordajandi L. R., Cottrill B., van Peteghem C., Dorne J.-L.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 270, 209 (2013).
6. Jakszyn P., Gonzáles C. A.: *World J. Gastroenterol.* 12, 4296 (2006).
7. Binato M., Schmidt M. K., Volkweis B. S., Ribeiro G. B. S., Edelweiss M. I., Gurski R. R.: *J. Surg. Res.* 148, 152 (2008).
8. Omar S. A., Artime E., Webb A. J.: *Nitric Oxide* 26, 229 (2012).
9. Antošová M.: *Farmakológia oxidu dusnatého*. Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Bratislava 2013.
10. Vitturi D.A., Patel R. P.: *Free Radical Biol. Med.* 51, 805 (2011).
11. Lundberg J. O., Gladwin M. T., Ahluwalia A., Benjamin N., Bryan N. S., Butler A., Cabrales P., Fago A., Feelisch M., Ford P. C., Freeman B. A., Frenneaux M., Friedman J., Kelm M., Kevil Ch. G., Kim-Shapiro D. B., Kozlov A. V., Lancaster J. R. Jr., Lefer D. J., McColl K., McCurry K., Patel R. P., Petersson J., Rassaf T., Reutov V. P., Richter-Addo G. B., Schechter A., Shiva S., Tsuchiya K., van Faassen E. E., Webb A. J., Zuckerbraun B. S., Zweier J. L., Weitzberg E.: *Nat. Chem. Biol.* 5, 865 (2009).
12. Van Faassen E. E., Bahrami S., Feelisch M., Hogg N., Kelm M., Kim-Shapiro D. B., Kozlov A.V., Li H., Lundberg J. O., Mason R., Nohl H., Rassaf T., Samouilov A., Slama-Schwok A., Shiva S., Vanin A. F., Weitzberg E., Zweier J., Gladwin M. T.: *Med. Res. Rev.* 29, 683 (2009).
13. Bennett H., Harwood H. F.: *Analyst* 60, 677 (1935).
14. Lukačka J., Čákrť M., Mocák J.: *Návody na cvičenia z chemickej analýzy*, II. diel. Slovenská vysoká škola technická v Bratislave, Chemickotechnologická fakulta, Bratislava 1969.
15. Kolektív katedry anal. chémie: *Návody na cvičenie z analytickej chémie*, II. diel. Slovenská vysoká škola technická v Bratislave, Chemickotechnologická fakulta, Bratislava 1966.
16. STN EN 26777 (75 7438): *Kvalita vody. Stanovenie dusitanov. Molekulárna absorpčná spektrofotometrická metóda* (apríl 1998).
17. Sreekumar N. V., Narayana B., Hegde P., Manjunatha B. R., Sarojini B. K.: *Microchem. J.* 74, 27 (2003).
18. Badiatka N., Kenchaiah S.: *Eurasian J. Anal. Chem.* 4, 204 (2009).
19. Andrade R., Viana C. O., Guadagnin S. G., Reyes F. G. R., Rath S.: *Food Chem.* 80, 597 (2003).
20. Pasquali C. E. L., Gallego-Picó A., Hernando P. F., Valesco M., Alegria J. S. D.: *Microchem. J.* 94, 79 (2010).
21. Zhang M., Yuan D., Chen G., Li Q., Zhang Z., Liang Y.: *Microchim. Acta* 165, 427 (2009).
22. Chen G., Yuan D., Huang Y., Zhang M., Bergman M.: *Anal. Chim. Acta* 620, 82 (2008).
23. Pons C., Santos J. L. M., Lima J. L. F. C., Forteza R., Cerdà V.: *Microchim. Acta* 161, 73 (2008).
24. Nouroozi S., Mirshafian R.: *Talanta* 79, 1149 (2009).
25. Yue X.-F., Zhang Z.-Q., Yan H.-T.: *Talanta* 62, 97 (2004).
26. Mubarak A. T., Mohamed A. A., Fawy K. F., Al-Shihry A. S.: *Microchim. Acta* 157, 99 (2007).
27. Nagaraja P., Al-Tayar N. G. S., Shivakumar A., Shrestha A. K., Gowda A. K.: *Spectrochim. Acta, Part A* 75, 1411 (2010).
28. Afkhami A., Masahi S., Bahram M.: *Bull. Korean Chem. Soc.* 25, 1009 (2004).
29. Afkhami A., Bahram M., Gholami S., Zand Z.: *Anal. Biochem.* 336, 295 (2005).
30. Afkhami A., Madrakian T., Maleki A.: *Anal. Biochem.* 347, 162 (2005).
31. Al-Okab R. A., Syed A. A.: *Talanta* 72, 1239 (2007).
32. Al-Okab R. A., Syed A. A.: *Spectrochim. Acta, Part A* 68, 739 (2007).
33. Ayala A., Leal L. O., Ferrer L., Cerdà V.: *Microchem. J.* 100, 88 (2012).
34. Xiong Y., Zhu D.-Q., Duan Ch.-F., Wang J.-W., Guan Y.-F.: *Anal. Bioanal. Chem.* 396, 943 (2010).
35. Hata N., Kawashima M., Kasahara I., Taguchi S.: *Anal. Sci.* 19, 239 (2003).
36. Huang K.-J., Wang H., Guo Y.-H., Fan R.-L., Zhang H.-S.: *Talanta* 69, 73 (2006).
37. Fernández-Argüelles M. T., Cañabate B., Costa-Fernández J. M., Pereiro R., Sanz-Medel A.: *Talanta* 62, 991 (2004).
38. Liu Q.-H., Yan X.-L., Guo J.-Ch., Wang D.-H., Li L., Yan F.-Y., Chen L.-G.: *Spectrochim. Acta, Part A* 73, 789 (2009).
39. Wang L., Dong L., Bian G.-R., Wang L.-Y., Xia T.-

- T., Chen H.-Q.: *Anal. Bioanal. Chem.* 382, 1300 (2005).
40. Noroozofar M., Khorasani-Motlagh M., Taheri A., Homayoonfard M.: *Talanta* 71, 359 (2007).
 41. Liu Y., Gu H.-Y.: *Microchim. Acta* 162, 101 (2008).
 42. Santos W. J. R., Sousa A. L., Luz R. C. S., Damos F. S., Kubota L. T., Tanaka A. A., Tanaka S. M. C. N.: *Talanta* 70, 588 (2006).
 43. Manea F., Remes A., Radovan C., Pode R., Picken S., Schoonman J.: *Talanta* 83, 66 (2010).
 44. Fogg A. G., Alonso R. M.: *Analyst* 113, 1337 (1988).
 45. Chamsi A. Y., Fogg A. G.: *Analyst* 113, 1723 (1988).
 46. Kozub B. R., Rees N. V., Compton R. G.: *Sens. Actuators, B* 143, 539 (2010).
 47. Sachetto G.A., Favaro G., Pastore P., Fiorani M.: *Anal. Chim. Acta* 294, 251 (1994).
 48. Hassan S. S. M., Marzouk S. A. M., Sayour H. E. M.: *Talanta* 59, 1237 (2003).
 49. Hu W., Dong X., He Z.: *Chinese J. Anal. Chem.* 32, 765 (2004).
 50. Zhu B., Zhong Z., Yao J.: *J. Chromatogr. A* 1118, 106 (2006).
 51. Niedzielski P., Kurzyca I., Siepak J.: *Anal. Chim. Acta* 577, 220 (2006).
 52. Ferreira I. M. P. L. V. O., Silva S.: *Talanta* 74, 1598 (2008).
 53. Zuo Y., Wang Ch., Van T.: *Talanta* 70, 281 (2006).
 54. Kodamatani H., Yamazaki S., Saito K., Tomiyasu T., Komatsu Y.: *J. Chromatogr. A* 1216, 3163 (2009).
 55. Akyüz M., Ata Ş.: *Talanta* 79, 900 (2009).
 56. <http://www.villalabeco.sk/aplikacie/AL21.pdf>, stiahnuté 18. januára 2014.
 57. Kubáň P., Nguyen H. T. A., Macka M., Haddad P. R., Hauser P. C.: *Electroanalysis* 19, 2059 (2007).

K. Lenghartová^a, L. Lauko^b, and E. Beinrohr^{a,b}
^a*Department of Chemistry, University of Ss. Cyril and Methodius, Trnava, Slovakia,* ^b*Institute of Analytical Chemistry, Slovak University of Technology, Bratislava):*
Analytical Methods for the Determination of Nitrites

Nitrites represent a serious health problem especially if present in drinking water for infants. On the other hand, they are used in the treatment of some cardiovascular diseases. The article deals with analytical methods used for the determination of nitrites in various samples.

18. – 21. 5. 2015 Ostrava, aula VŠB-TU Ostrava NanoOstrava 2015 - 4th Nanomaterials and Nanotechnology Meeting

Centrum nanotechnológií, VŠB-TU Ostrava Vás srdečně zve na čtvrtý ročník mezinárodní vědecké konference NanoOstrava 2015, jež bude opět místem pro setkání a rozhovory mezi vědci, studenty a zástupci firem se zájmem o rozvoj v oblastech nanomateriálů a nanotechnologií. Konference se zaměří na nejnovější pokroky a výsledky výzkumu týkající se nanomateriálů pro medicínu, pokročilých nanomateriálů, nanomateriálů pro elektronická zařízení, nanokompozitů či nanouhlikatých materiálů. V rámci vědeckého programu vystoupí s plenárními přednáškami zvané osobnosti z významných světových vědeckých pracovišť. Účastníci konference budou mít možnost publikovat své příspěvky v některém z renomovaných vědeckých časopisů. Stejně jako v minulých ročnících se můžete těšit na bohatý doprovodný a sociální program.

Příjem abstraktů přednášek a posterů bude probíhat do 20. dubna 2015, registrace do 17. května 2015 a zaslání konferenčního příspěvku do 20. června 2015.

Pro více informací, prosím, navštivte stránky **www.nanoostrava.cz**

Za organizační tým: Gražyna Simha Martynková, Sylva Holešová, Daniela Plachá, Karla Čech Barabaszová, Vladimíra Plačková

