

VYUŽITÍ VYSOKOROZLIŠOVACÍ MOLEKULOVÉ SPEKTROMETRIE S KONTINUÁLNÍM ZDROJEM ZÁŘENÍ NA STANOVENÍ DUSITANOVÉHO A DUSIČNANOVÉHO DUSÍKU

MARTIN NĚMEČEK, LUBOMÍR MACHYŇÁK,
ERNEST BEINROHR, FRANTIŠEK ČACHO
a PATRIK HORVÁTH

*Ústav analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej technickej univerzity v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
martin.nemecek@stuba.sk*

Došlo 30.11.16, přijato 20.4.17.

Klíčová slova: dusitany, dusičnany, molekulová absorpční spektrometrie, HR-CS GF MAS

Úvod

Dusičnanové a dusitanové formy dusíku jsou důležité pro svůj vliv na životní prostředí a zdraví lidí. Ve vodních ekosystémech mohou být považovány za zdroje dusíku mikroorganismy. Takto produkovaný dusík může být toxický a způsobovat eutrofizaci vod při vysokých koncentracích. Jak dusitany, tak dusičnany jsou důležité indikátory znečištění vod^{1–3}. V lidském těle může dusitan reagovat se sekundárními nebo terciárními aminy a tvořit nitrosoaminy. V krvi může dusitan také reagovat s Fe(II) v hemoglobinu za vzniku methemoglobinu, který nemá schopnost přenášet kyslík^{1,2}.

Ke stanovení dusitanů a dusičnanů byla použita iontová chromatografie^{4,5}, kapilární elektroforéza⁶, plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií⁷, elektrochemické metody^{8–10} a spektrofotometrická metody^{2,11–13}. Nevýhodou většiny těchto metod je nízká reprodukovatelnost, časová náročnost a složitá instrumentace³. Proto je vývoj jednoduchých, rychlých a spolehlivých metod pro stanovení dusitanů a dusičnanů velmi důležitý.

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je běžně používaná pro stanovení stopových a ultrastopových koncentrací kovů a polokovů. Přímé stanovení nekovů není možné, protože jejich rezonanční čáry se nacházejí ve vakuové UV oblasti pod 200 nm. Tato situace se změnila po uvedení na trh prvního atomového absorpčního spektrometru s kontinuálním zdrojem záření a vysokým rozlišením (HR-CS AAS)¹⁴. Použitím prvkově nespecifického zdroje záření je možné měřit absorpci při jakémkoliv vlnové délce, včetně molekulových pásů jednoduchých dvojjatomových molekul.

Stanovení koncentrací dusitanů a dusičnanů je důležitou složkou rozboru pitné vody. V případě povrchových a odpadových vod a při analytické kontrole biologických čistíren odpadních vod je stanovení dusitanů a dusičnanů zahrnuté do dusíkových bilancí celkového dusíku¹⁵.

Cílem této práce bylo navrhnout vhodný postup stanovení dusitanového a dusičnanového dusíku na základě tvorby jednoduché molekuly NO použitím vysokorozlišovací molekulové absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací.

Experimentální část

Pomůcky a chemikálie

Použitá činidla měla potřebnou analytickou čistotu. Všechny roztoky byly připraveny použitím deionizované vody, která byla přečištěna pomocí zařízení NanoPure (Wilhelm Werner GmbH, Leverkusen, Německo). Voda pro elektrochemické účely byla navíc převařena, aby byla zbavena plynů v ní rozpuštěných. Používané sklo bylo předem umyté deionizovanou vodou a vysušené v neprašném prostředí.

Základní zásobní roztoky obsahující 1 g dm⁻³ dusičnanu a dusitanu byly připraveny rozpuštěním dusičnanu sodného a dusitanu sodného (obojí Merck KGaA, Darmstadt, Německo) v deionizované vodě. Tyto roztoky byly použity k ředění na roztoky požadované koncentrace. Použitý modifikátor 1% (m/V) Ca byl připraven rozpuštěním chloridu vápenatého (Merck).

V průběhu měření byla na promývání autosampleru použita pouze deionizovaná voda, neboť čištění pomocí kyseliny dusičné by mohlo způsobovat interferenci při vlastním stanovení.

Správnost metody byla ověřena použitím certifikovaného referenčního materiálu Anions – WP QC 1060-20ML (Sigma-Aldrich, Wyoming, USA).

Přístrojové vybavení

Na vývoj metody a měření molekulární absorpce molekuly NO byl použitý vysokorozlišovací atomový absorpční spektrometr ContrAA 700 (Analytik Jena, Jena, Německo) s kontinuálním zdrojem záření, kterým je xenonová výbojka. Zařízení je vybaveno příčně vyhlívanou grafitovou kyvetou s integrovanou platformou a lineárním CCD detektorem.

Jako porovnávací metoda byla zvolena metoda průtokové chronopotenciometrie na průtokovém analyzátoru EcaFlow 150 GLP (Istran s.r.o., Bratislava, Slovensko). Použita byla příslušná aplikace, která je společně s použitou makroporézní uhlíkovou elektrodou dostupná od výrobce.

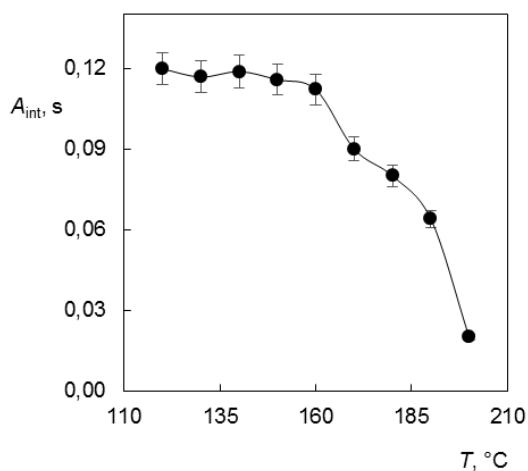
Základní podmínky měření

Všechna měření byla uskutečněna v příčně vyhřívané grafitové kyvetě se zabudovanou platformou (typ 407-A81.026, Analytik Jena, Jena, Německo). Inertní ochranná atmosféra byla zajištěna pomocí argonu (Messer, Bratislava, Slovensko) 99,998% čistoty s průtokem $2,0 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$. Průtok argonu byl v průběhu teplotního programu zastavený v kroku, při kterém docházelo k tvorbě molekuly NO. Koncentrace dusičnanů a dusitanů byla zjišťována pomocí absorpčního pásu molekuly NO při vlnové délce 215,360 nm (cit.¹⁶). Při vyhodnocování výsledků byla použita suma ploch píků integrované absorbance na 3 pixelech. Při optimalizaci metody byl použit roztok obsahující 20 mg dm^{-3} dusitanů a dusičnanů, dávkovaný objem činil $20 \mu\text{l}$. Do kyvety se dále dávkovalo $5 \mu\text{l}$ 1% (m/V) Ca.

Výsledky a diskuse

Optimalizace teplotního programu

Na zabezpečení maximální citlivosti metody bylo nutné optimalizovat zejména podmínky nutné na generování molekuly NO, tj. vhodnou teplotu pyrolýzy a teplotu tvorby molekuly. Nejprve byl sledován vliv teploty pyrolýzy na tvorbu molekuly NO v teplotním intervalu 120 až $200 \text{ }^\circ\text{C}$ sledováním její integrované absorbance. Při tomto postupu byla jako optimální zvolena teplota tvorby molekuly NO $1500 \text{ }^\circ\text{C}$. Ze závislosti na obr. 1 je zřejmé, že optimální teplota pyrolýzy je $160 \text{ }^\circ\text{C}$. Podobně byl sledován i vliv teploty na tvorbu molekuly NO, a to sice



Obr. 1. Optimalizace teplotního programu: Závislost absorbance na teplotě pyrolýzy. Chybové úsečky reprezentují směrodatnou odchylku (N=3)

v rozsahu $900\text{--}1800 \text{ }^\circ\text{C}$. Ze získané závislosti na obr. 2 vyplývá, že optimální teplota pro tvorbu molekuly, při optimalizované teplotě pyrolýzy, je $1300 \text{ }^\circ\text{C}$. Optimální teplotní program vyhřívané grafitové kyvety na stanovení dusitanů a dusičnanů je uvedený v tab. I.

V případě, že nejsou pozorovány žádné spektrální interference, je možné použít teplotní program publikovaný Huangem a spol.¹⁶. V jejich práci je vedena teplota pyrolýzy $150 \text{ }^\circ\text{C}$ a teplota tvorby molekuly v rozmezí $700\text{--}900 \text{ }^\circ\text{C}$. Tento teplotní program je šetrnější k životnosti grafitové kyvety.

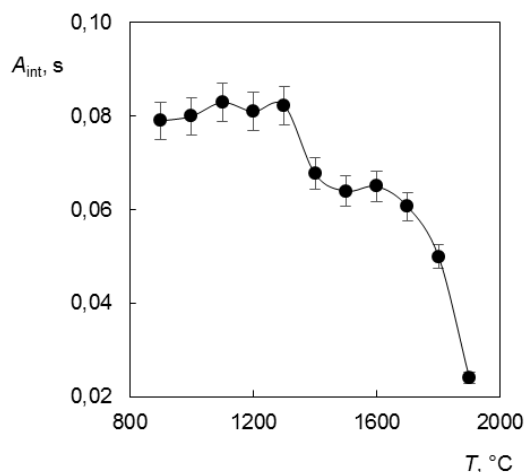
Validace metody

V dalších krocích byly určeny validační parametry jako mez detekce (LOD), mez stanovitelnosti (LOQ), opa-

Tabulka I

Optimalizovaný teplotní program pro stanovení $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ metodou HR CS MAS

Krok	Teplota [$^\circ\text{C}$]	Nárůst teploty [$^\circ\text{C s}^{-1}$]	Čas setrvání [s]
Sušení	90	3	20
	110	5	30
Pyrolýza	160	50	20
	160	0	5
Tvorba molekuly	1300	1500	8
Čištění	2000	500	4



Obr. 2. Optimalizace teplotního programu: Závislost absorbance na teplotě tvorby molekuly; chybové úsečky reprezentují směrodatnou odchylku (N=3)

Tabulka II

Ověření správnosti stanovení $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ metodou HR CS MAS

Metoda	N- NO_2^- [mg dm ⁻³]	N- NO_3^- [mg dm ⁻³]	N-($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) [mg dm ⁻³]
Deklarovaná koncentrace CRM	1,21 ± 0,0304	8,88 ± 0,114	10,1 ± 0,156
Průtoková chronopotenciometrie	1,22 ± 0,0440	8,79 ± 0,102	10,0 ± 0,146
HR CS MAS	---	---	10,0 ± 0,094

kovatelnost a lineární rozsah. Meze detekce a stanovitelnosti byly vypočítány jako troj-, resp. desetinásobek směrodatné odchylky slepého pokusu. Mez detekce pro danou metodu má hodnotu 0,16 mg dm⁻³ a mez stanovitelnosti 0,53 mg dm⁻³. Lineární rozsah je v intervalu 0,3–200 mg dm⁻³, přičemž byla dosažena hodnota korelačního koeficientu 0,9979. Z dvaceti po sobě jdoucích měření byla určena opakovatelnost metody, která byla zjištěna z hodnot aritmetického průměru a směrodatné odchylky a činila RSD=4,1 %.

Ověření správnosti metody

Správnost metody byla ověřena pomocí analýzy certifikovaného referenčního materiálu a porovnáním s referenční metodou, kterou v tomto případě byla průtoková chronopotenciometrie. Výsledky ověření správnosti metody jsou uvedeny v tab. II.

Tato práce byla podpořena Agenturou na podporu výzkumu a vývoje MŠVVŠ SR (projekt č. APVV-15-0355) a Vědeckou grantovou agenturou VEGA MŠVVŠ SR a SAV (projekt č. 1/0489/16).

LITERATURA

- Camargo J. A., Alonso Á.: *Environ. Int.* 32, 831 (2006).
- Ayala A., Leal L. O., Ferrer L., Cerda V.: *Microchem. J.* 100, 55 (2012).
- Noroozifar M., Khorasani-Motlagh M., Taheri A., Homayoonfard M.: *Talanta* 71, 359 (2007).
- Siu D. C., Henshall A.: *J. Chromatogr. A* 804, 157 (1998).
- Niedzielski P., Kurzyca I., Siepak J.: *Anal. Chim. Acta* 577, 220 (2006).
- Pagliano E., Onor M., Pitzalis E., Mester Z., Sturgeon R. E., D'Ulivo A.: *Talanta* 85, 2511 (2011).
- Oztekin N., Nutku M. S., Erim F. B.: *Food Chem.* 76, 103 (2002).
- Serra A. S., Jorge S. R., Silveira C. M., Moura J. J. G., Jubete E., Ochoteco E., Cabañero G., Grande H., Almeida M. G.: *Anal. Chim. Acta* 693, 41 (2011).
- Xia C., Xiaolan C., Ning W., Lin G.: *Anal. Chim. Acta* 691, 43 (2011).
- Hu F., Chen S., Wang C., Yuan R., Yuan D., Wang C.: *Anal. Chim. Acta* 724, 40 (2012).
- Patey M. D., Achterberg E. P., Rijkenberg M. J. A., Statham P. J., Mowlem M.: *Anal. Chim. Acta* 673, 109 (2010).
- Filik H., Giray D., Ceylan B., Apak R.: *Talanta* 85, 1818 (2011).
- Pandurangappa M., Venkataramanappa Y.: *Food Anal. Methods* 4, 90 (2011).
- Welz B., Becker-Ross H., Florek S., Heitmann U.: *High-Resolution Continuum Source AAS*, Wiley-VCH, Weinheim 2005.
- Horáková M.: *Analytika vody*. VŠCHT, Praha 2003.
- Huang M. D., Becker-Ross H., Florek S., Heitmann U., Okruss M., Welz B., Ferreira H. S.: *J. Anal. At. Spectrom.* 25, 163 (2010).

M. Němeček, E. Machyňák, E. Beinrohr, F. Čacho, and P. Horváth (*Institute of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava*): **Application of High-Resolution Continuum Source Molecular Absorption Spectrometry for the Determination of Nitrite and Nitrate Nitrogen**

A simple, fast and reliable analytical method was developed for nitrite and nitrate determination by high-resolution continuum source electrothermal molecular absorption spectrometry by making use of the NO molecule. The NO spectral line at 215.360 nm was used for analytical measurements. A volume of 20 µL of standard solution or water sample was injected into the graphite furnace and 5 µL of the 1% (m/v) Ca solution was co-injected as a chemical modifier. The pyrolysis and vaporization temperatures were 160 °C and 1300 °C, respectively. The certified reference material data obtained by flow-through coulometry are in good agreement with those measured by HR-CS GFMA. The results obtained by analyzing a certified reference material imply the suitability of the determination of total nitrite and nitrate nitrogen using the NO molecule.