



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

224 868

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 22 07 81
(21) PV 5690-81

(51) Int. Cl.³ G 01 N 27/48

(40) Zveřejněno 27 05 83
(45) Vydáno 01 08 85

(75)

Autor vynálezu

PEČENKA VLADIMÍR ing., SKUTEČ

MEJSTRÍK VIKTOR ing.

SÁGNER ZDENĚK, PARDUBICE

(54) Způsob stanovení stopových množství dimethylnitrosaminu v tuhých organických materiálech

1

Vynález se týká stanovení stopových množství dimethylnitrosaminu v tuhých organických materiálech pomocí diferenčně pulsní polarografie.

V posledních letech se stále zvyšuje pozornost, věnovaná expozici člověka nitrosaminy jako potenciálními karcinogeny obsaženými v potravinách. Stanovení nitrosaminů v potravinách a stejně tak v jiných komplexních směsích je složitý analytický problém. Dokazovaná množství nitrosaminů bývají řádu desítek nanogramů, přičemž látky interferující při detekci se vyskytují v koncentracích až o pět řádů vyšších. Důsledkem je, že např. pro stanovení nitrosaminů pomocí plynové chromatografie s běžnými nepříliš selektivními detektory, jako jsou AFID, ECD a CECD, musí být vzorek složitým a pracným způsobem upravován. Během úpravy vzorku dochází k odstranění všech látek, interferujících při detekci, a k koncentrování nitrosaminu do malého objemu. I přes složité předčišťování vzorku před analýzou pomocí uvedených detektorů trvá nebezpečí falešně pozitivních výsledků a pozitivní nálezy musí být ověřovány na hmotnostním spektrometru. Proto se ve světě velmi osvědčila metoda využívající kombinace plynového či kapalinového chromatografu s vysoce selektivním a citlivým chemiluminiscenčním detektorem nitrosaminů, kde postačuje jednoduchá a časově nenáročná úprava vzorku. Nevýhodou této metody je ovšem velmi nákladné a zcela jednoúčelové instrumentální vybavení.

Polarografie byla již navržena pro stanovení nitrosaminů ve zvířecí tkáni. Navržené metody však nejsou používány, neboť nedosahují potřebné citlivosti a při aplikaci na složitější systémy, než je zvířecí tkáň, poskytují falešně pozitivní výsledky.

Nyní byl nalezen způsob stanovení stopových množství dimethylnitrosaminu, jako nejdůležitějšího představitele nitrosaminů, v tuhých organických materiálech pomocí diferenčně pulsní polarografie, který podle tohoto vynálezu spočívá v tom, že se rozemletý vzorek materiálu extrahuje směsí chloroformu a metanolu, extrakt se odpaří na 20 až 50 ml, po přidání vody se odpaří zbytek organické fáze, vodná fáze se předestiluje, destilát se promyje tetrachlormetanem, po přidání hydroxidu sodného se provede extrakce dichlormetanem, extrakt se promyje kyselinou sírovou o koncentraci až 5 mol/l, provede se extrakce z dichlormetanu do kyseliny sírové o koncentraci 6 až 10 mol/l, takto vyčištěný vzorek se oxiduje manganistanem draselným v kyselém prostředí, nadbytek manganistanu draselného se zredukuje a vzorek se dále čistí destilací a po přidání hydroxidu sodného se extrahuje do chloroformu, z něhož se po odpaření na 2 ml převede přítomný dimethylnitrosamin extrakcí do 0,2 ml kyseliny sírové o koncentraci 8 až 12 mol/l, v níž se pak stanoví při teplotě -20 až 0°C po zředění na koncentraci kyseliny sírové 1 až 3 mol/l.

Zvýšená selektivita a citlivost metody podle tohoto vynálezu oproti dříve navrženým polarografickým metodám byla dosažena vyřešením dokonalého odstranění interferujících látek způsobem podle vynálezu, provedením polarografického stanovení dimethylnitrosaminu v silně kyselém prostředí a za snížené teploty a využitím diferenčně pulsní polarografie, která je selektivnější a řádově citlivější modifikací klasické polarografie.

Výhoda způsobu stanovení stopových množství nitrosaminu v tuhých organických materiálech podle tohoto vynálezu spočívá v tom, že potřebné přístrojové vybavení, tj. diferenčně pulsní polarograf, je oproti přístrojovému vybavení nutnému pro dosud běžně používanou chemiluminiscenční metodu, tj. plynový či kapalinový chromatograf spojený s chemiluminiscenčním detektorem nitrosaminů, řádově levnější a dostupnější. Navíc diferenčně pulsní polarograf není jednorúčelové zařízení a může být využit pro stanovení širokého spektra látek.

Analytický postup, který je předmětem tohoto vynálezu, poskytuje reprodukovatelné výsledky a dosahuje velmi dobrých mezí citlivosti.

Způsob podle vynálezu ilustruje následující příklad.

Příklad provedení

Stanovení množství dimethylnitrosaminu přítomného ve sladu. 50 g mletého sladu bylo extrahováno 2 hodiny v 250 ml Soxhletově extraktoru směsí 250 ml chloroformu a 30 ml metanolu. Extrakt v 500 ml destilační baňce byl odpařen na objem 40 ml pod sypanou destilační kolonou výšky 50 cm a šířky 2,5 cm při refluxu 4 : 1. Destilační zbytek byl společně s 50 ml vody odpařován ve 250 ml destilační baňce na rotační vakuové odparce

do vydestilování organické fáze. Poté bylo přidáno 20 ml n-hexanu a bylo pokračováno v odpařování stejným způsobem. Zbývající vodná fáze v destilační baňce byla pro přidání 30 g síranu amonného destilována přes sestupný Liebigův chladič. Prvých 15 ml destilátu bylo v 50 ml dělicí nálevce promyto 2krát 5 ml tetrachlormetanu a vodná fáze byla po přidání 20 ml hydroxidu sodného o koncentraci hydroxidu sodného 10 mol/l extrahována 2krát 5 ml dichlormetanu. Spojený extrakt byl v 50 ml dělicí nálevce promyt 4 ml kyseliny sírové o koncentraci 4 mol/l a vodná fáze byla reextrahována 10 ml dichlormetanu ve spojení se souřadnicovým zapisovačem za těchto podmínek:

měřicí elektroda: Novotného rtuťová kapková
srovnávací elektroda: normální kalomelová
operace: diferenčně pulsní polarografie
počáteční potenciál: -400 mV
měřicí rozsah: -1 500 mV
nárůst napětí: 5 mV/s
doba řízené kapky: 1 s
amplituda pulsu: 50 mV
citlivost analyzátoru: 17
citlivost zapisovače: obě souřadnice 100 mV/cm.

Pro výpočet obsahu dimethylnitrosaminu v sladu byl vzat v úvahu výtěžek dimethylnitrosaminu během zpracování vzorku, který dosahuje 46 %. Za kvalitativní důkaz skutečnosti, že sledovaný pík při diferenčně pulsní polarografii je způsoben dimethylnitrosaminem, bylo považováno zmizení píku po 45 minutách ozařování světlem o vlnové délce 360 nm za podmínek, kdy poločas fotolytického rozkladu dimethylnitrosaminu byl 11 minut.

Dosažené výsledky analýzy sladu:

analýza č.	nález dimethylnitrosaminu v $\mu\text{g/kg}$ sladu:
1	3,1
2	3,5
průměr	3,3

Směrodatná odchylka jedné analýzy byla 8 %, mez citlivosti byla 0,6 μg dimethylnitrosaminu/kg sladu.

Na výkrese je znázorněn polarografický záznam analýzy sladu.

Na ose y je vynášena hodnota proudu I a na ose x potenciál rtuťové kapkové elektrody proti normální kalomelové elektrodě.

Křivka 1 představuje záznam analýzy vzorku,

křivka 2 představuje záznam analýzy vzorku po standardním přidavku a

křivka 3 představuje záznam analýzy vzorku po standardním přidavku a fotolýze.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob stanovení stopových množství dimethylnitrosaminu v tuhých organických materiálech pomocí diferenčně pulsní polarografie, vyznačený tím, že se rozemletý vzorek materiálu extrahuje směsí chloroformu a metanolu, extrakt se odpaří na 20 až 50 ml, po přidání vody se odpaří zbytek organické fáze, vodná fáze se předestiluje, destilát se promyje tetrachlormetanem, po přidání hydroxidu sodného se provede extrakce dichlormetanem, extrakt se promyje kyselinou sírovou o koncentraci 1 až 5 mol/l, provede se extrakce z dichlormetanu do kyseliny sírové o koncentraci 6 až 10 mol/l, takto vyčištěný vzorek se oxiduje manganistanem draselným v kyselém prostředí, nadbytek manganistanu draselného se zredukuje a vzorek se dále čistí destilací a po přidání hydroxidu sodného se extrahuje do chloroformu, z něhož se po odpaření na 2 ml převede přítomný dimethylnitrosamin extrakcí do 0,2 ml kyseliny sírové o koncentraci 8 až 12 mol/l, v níž se pak stanoví při teplotě -20 až 0 °C po zředění na koncentraci kyseliny sírové 1 až 3 mol/l.

1 výkres

