



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

224 498

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 25 08 81
(21) PV 6326-81

(51) Int. Cl. G 01 N 27/48

(40) Zveřejněno 27 05 83
(45) Vydáno 15 02 86

(75)

Autor vynálezu PEČENKA VLADIMÍR ing., SKUTEČ
MEJSTŘÍK VIKTOR ing., SKUTEČ
SÁGNER ZDENĚK, PARDUBICE

(54) Způsob stanovení stopových množství dimetylnitrosaminu ve vodných vzorcích

Vynález se týká stanovení stopových množství dimetylnitrosaminu ve vodných vzorcích pomocí diferenčně pulsní polarografie.

V posledních letech se stále zvyšuje pozornost věnovaná expozici člověka nitrosaminy jako potenciálními karcinogeny obsaženými v potravinách. Stanovení nitrosaminu 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 nepřítliš selektivními detektory musí být vzorek složitým a pracným způsobem upravován.

Během úpravy vzorku dochází k odstranění všech látek, interferujících při detekci, a k zkoncentrování nitrosaminu do malého objemu. I přes složité předčišťování vzorku před analýzou pomocí výše 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 nákladní a zcela jednoduše 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 systém, než je zvířecí tkáň, poskytují falešně pozitivní výsledky.

Nyní byl nalezen způsob stanovení stopových množství dimetylnitrosaminu, jako nejdůležitějšího představitele nitrosaminů, ve vodných vzorcích pomocí diferenční pulsní polarografie, který podle tohoto vynálezu spočívá v tom, že se vzorek předdestiluje, destilát se podrobí ezeotropické destilaci s tetrachlormethanem, destilační zbytek se promyje tetrachlormethanem, po přidání hydroxidu sodného se provede extrakce dichlormethanem, extrakt se promyje kyselinou sírovou o koncentraci $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1$ až 5 mol/l , provede se extrakce z dichlormetanu do kyseliny sírové o koncentraci $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 6$ 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 dimetylnitrosamin extrakcí do $0,2 \text{ ml}$ kyseliny sírové o koncentraci $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 8$ až 12 mol/l , v níž se pak stanoví při teplotě -20 až 0°C po zředění na koncentraci kyseliny sírové $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1$ 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 dimetylnitrosaminu v silně kyselém prostředí a za snížené teploty a využitím diferenční pulsní polarografie, která je selektivnější a řádově citlivější modifikací klasické polarografie.

Výhoda způsobu stanovení stopových množství nitrosaminu ve vodných vzorcích podle tohoto vynálezu spočívá v tom, že potřebné přístrojové vybavení, tj. diferenční pulsní polarograf, je oproti přístrojovému vybavení nutnému pro dosud běžně používanou chemiluminiscenční metodu, tj. plynový či kapalinový chromatograf spojený s analyzátozem, řádově levnější a dostupnější. Navíc diferenční pulsní polarograf není jednodílné 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.

P ř í k l a d

Do 1 l destilační baňky bylo předloženo 200 g síranu amonného a 250 ml odpěněného vzorku 12° piva a obsah byl destilován přes sestupný Liebigův chladič. Prvních 50 ml destilátu bylo spolu s 80 ml tetrachlormetanu odpařováno v 250 ml destilační baňce, připojené k sypané destilační koloně výšky 50 cm a šířky $2,5 \text{ cm}$, při reflexu $4:1$. Po oddestilování 70 ml destilátu byla z destilačního zbytku ve 250 ml dělicí nálevce odstraněna organická fáze, vodná fáze byla promyta 20 ml tetrachlormetanu a po přidání 40 ml hydroxidu sodného o koncentraci $c(\text{NaOH}) = 10 \text{ mol/l}$ extrahována 2krát 15 ml dichlormetanu. Spojený extrakt byl ve 100 ml dělicí nálevce promyt 10 ml kyseliny sírové o koncentraci $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 4 \text{ mol/l}$ a vodná fáze byla reextrahována 30 ml dichlormetanu. Spojené organické fáze byly odpařeny na objem 20 ml ve 100 ml destilační baňce, připojené k sypané destilační koloně výšky 25 cm a šířky $2,5 \text{ cm}$, při reflexu $4:1$.

Destilační zbytek byl v 50 ml dělicí nálevce zředěn 10 ml n-hexanu a extrahován 2krát 5 ml kyseliny sírové o koncentraci $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 8 \text{ mol/l}$. Spojený extrakt v kyselině sírové byl ve 250 ml destilační baňce smísen s 5 ml 5% vodného alkoholu a 50 ml manganistanu draselného o koncentraci $c(\text{KMnO}_4) = 0,2 \text{ mol/l}$. Přesně po 30 minutách od smísení s manganistanem draselným bylo přidáno 40 ml síranu železnatého o koncentraci $c(\text{FeSO}_4) = 1 \text{ mol/l}$ a 60 g síranu amonného a obsah baňky byl destilován přes sestupný Liebigův chladič.

Prvních 30 ml destilátu bylo po smísení s 30 ml hydroxidu sodného o koncentraci $c(\text{NaOH}) = 10 \text{ mol/l}$ ve 100 ml dělicí nálevce extrahováno 2krát 10 ml chloroformu. Spojený

extrakt byl odpařen na objem 2 ml v 50 ml srdcové baňce, připojené k trubicové destilační koloně výšky 60 cm a světlosti 4 mm při refluxu 2:1. Destilační zbytek byl po zředění 1 ml n-hexanu extrahován 20 μ l kyseliny sírové o koncentraci c (H_2SO_4) = 10 mol/l za probublávání vzduchem v extrakční nádobce ve tvaru zábrusové zkumavky s postranním tubusem pro přívod vakua, s kónickým dnem a s kapilárou sahající ke dnu. Vyextrahovaná organická fáze byla odsáta a extrakt byl zfiltrován přes skelnou vat v miniaturní nálevce za pomoci vakua.

Extrakční nádobka byla vypláchnuta 0,6 ml vody a výplach byl filtrací připojen ke vzorku. Ve spojeném filtrátu, jímáném do zkumavky o průměru 12 mm, byl po ochlazení na 0 °C a vytěsnění kyslíku probubláváním dusíkem stanoven dimetylnitrosamin pomocí diferenční pulsní polarografie běžným způsobem metodou standardního přídatku. Měření probíhalo na polarografickém analyzátoru LP 2 ve spojení se souřadnicovým zapisovačem za těchto podmínek:

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

Pro výpočet obsahu dimetylnitrosaminu v pivu byl vzat v úvahu výtěžek dimetylnitrosaminu během zpracování vzorku, který dosahuje 47 %. Za kvalitativní důkaz skutečnosti, že sledovaný pík při diferenční pulsní polarografii je způsoben dimetylnitrosaminem, bylo považováno zmizení píku po 45 minutách ozařování světlem, o vlnové délce 360 nm za podmínek, kdy poločas fotolytického rozkladu dimetylnitrosaminu byl 11 minut.

Výsledky analýzy 12° světlého piva:

Analýza č.	Nález dimetylnitrosaminu (μ g/l piva)
1	0,44
2	0,42
3	0,49
4	0,47
průměr	0,455

Směrodatná odchylka jedné analýzy byla 7 %, mez citlivosti byla 0,3 μ g dimetylnitrosaminu/l piva.

Na přiloženém výkresu je znázorněn polarografický záznam analýzy 12° světlého piva.

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

Křivka 1 představuje záznam analýzy vzorku světlého 12° piva s nalezeným obsahem dimetylnitrosaminu v hodnotě 0,47 $\mu\text{g/l}$.

Křivka 2 představuje záznam analýzy vzorku světlého 12° piva s nalezeným obsahem dimetylnitrosaminu v hodnotě 0,47 $\mu\text{g/l}$ po standardním přidavku.

Křivka 3 představuje záznam analýzy vzorku světlého 12° piva s nalezeným obsahem dimetylnitrosaminu v hodnotě 0,47 $\mu\text{g/l}$ po standardním přidavku a fotolýze.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob stanovení stopových množství dimetylnitrosaminu ve vodných vzorcích pomocí diferenčně-pulsní polarografie, vyznačený tím, že se vzorek předdestiluje, destilát se podrobí azeotropické destilaci, s tetrachlorometanem, destilační zbytek se promyje tetrachlorometanem, 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 dimetylnitrosamin extrakcí do 0,2 ml kyseliny sírové o koncentraci 8 až 12 mol/l, v níž se pak odstraní při teplotě -20 až 0 °C po zředění na koncentraci kyseliny sírové rovnající se 1 až 3 mol/l.

1 výkres

224498

