

Növényminták nitráttartalmának meghatározása

Arra a célra, hogy a növényekben előforduló N-tartalmú vegyületek biológiai átalakulását nyomon lehessen követni, olyan érzékeny és pontos analitikai eljárásokra van szükség, melyekkel e vegyületek átalakulása során keletkező egyes N-formákat külön-külön meg lehet határozni. Ehhez a problémakörhöz kapcsolódik a növények nitráttartalmának meghatározása.

A szakirodalmat áttekintve azt tapasztaljuk, hogy a NO_3^- -ionok meghatározására szolgáló, különböző alapelveken nyugvó módszerek száma nagy. Ez a tény arra utal, hogy a problémára még korántsincs megnyugtató megoldás, hanem állandóan napirenden van. Nehezíti ennek a feladatnak a megoldását az is, hogy a növényekből kivont NO_3^- -ionok nem ún. tiszta oldatokban vannak az elemzés folyamán, hanem olyan kivonatokban, melyek a növényekből kioldódó egyéb szerves és szervetlen anyagokat is tartalmazzák. Mivel ezek a kísérőanyagok a meghatározásokat különböző mértékben zavarhatják, a kivonatok készítésének módja sem elhanyagolható kérdés a nitráttartalom meghatározás eljárása szempontjából.

A növényminták előkészítése az elemzéshez

A növénymintát - a vizsgálat célja szerint - friss vagy szárított állapotban elemezhetjük.

Ha friss, zöld növényt kívánunk elemezni, akkor vagy azonnal a minta megszedése után kell a meghatározást elvégezni, vagy, ha a mintát előrelátólag hosszabb ideig tárolni kell, célszerű azt gyorsfagyasztás után, -10°C körüli hőmérsékleten tartani az elemzés megkezdéséig /BARKER, 1973; SCHOUWENBURG és WALINGA, 1978/.

Ha szárított állapotban elemezhetjük meg a mintákat, akkor előnyös, ha a szárítást liofilizálással végezzük, mivel ezzel az eljárással a növényi szöveteket és a bennük levő anyagokat kíméletesen lehet száraz állapotba átvinni. Ennek a szárítási eljárásnak is vannak azonban hátrányai: kevés mintaanyag szárítható egyszerre, ezért igen időigényes, ezen túlmenően költséges /a hagyományos szárításnál költségesebb/ eljárás. Így csak kevés laboratórium alkalmazhatja /BARKER, 1973; CATALDO et al., 1975; AWORH et al., 1980/.

A legelterjedtebben használt módszer ma is a szárítószekrényben, $60-80^\circ\text{C}$ -on, 24-30 órán át végzett szárítás /BAKER et al., 1972; CATALDO et al., 1975; TERMAN és ALLEN, 1978; PAPASTYLIANOU et al., 1982, 1984; NOVOZAMSIN et al., 1983; TABOR et al., 1984/.

A megszáritott mintát finomra darálják és 0,3-1,0 mm lyukbőségű szitán engedik át /JOHNSON és ULRICH, 1950; BAKER és SMITH, 1969; CATALDO et al., 1975; PRASAD és SPIERS, 1984/.

Kivonat készítése növényi anyagból

A nitrátionoknak a növényi anyagokból történő kivonására használt kivonószerekkel szemben a következő követelményeket támasztja az analitikai gyakorlat:

- a kivonószert a nitrátot teljes egészében vonja ki;
- a kivonatot jól lehessen elemezni /kolorimetricus eljárásoknál fontos, hogy a kivonat se színes, se zavaros ne legyen/;
- a kivonószert ne reagáljon a nitráttal, s ne befolyásoljon olyan folyamatokat, melyek a nitráttartalmat megváltoztathatják;
- a laboratóriumi munkabeosztás szempontjából kívánatos, hogy a kivonatot bizonyos ideig tárolni lehessen.

A nitrát vízben jól oldódik, ezért sokan használták és használják a vizet kivonószerként a különféle nitrát-meghatározásoknál. A fenti követelményeknek azonban a víz sem tud mindenben megfelelni. Egyes szerzők szerint nem biztos, hogy a nitrátot teljesen kioldja /különösen talajokból nem/. Nem reagál ugyan a nitráttal, de nem gátolja a mikroorganizmusok és enzimek tevékenységét, ezért egyfelől a nitrátok tovább bomolhatnak, másfelől a kivonatok zavarosakká válhatnak, tárolhatóságuk tehát korlátozott. Emellett, a vizes kivonatok általában színesek, kioldják a növényekből a vízben oldódó szerves és szervetlen anyagokat, ezek pedig nem egy nitrát-meghatározási eljárásnál zavarnak /JOHNSON és ULRICH, 1950; MORRIS és GONZÁLEZ-MÁS, 1958; PAUL és CARLSON, 1968; BARKER, 1973; USHER és TELLING, 1975; SCHOUWENBURG és WALINGA, 1978; A növényvizsgálatok ..., 1981; HEANES, 1982/. Ezért több szerző híg sóoldatok, ill. savak használatát javasolja. Az utóbbi időben - elsősorban a potenciometrikus nitrát-meghatározásnál - 0,01 vagy 0,025 mcl/l-es Al-szulfát oldatot alkalmaznak. Ennek előnye a vízzel szemben, hogy az oldatba került kolloidokkal kelátokat képez, s így a zavaró hatásokat csökkentti, végül a kivonatot nagyobb mértékű pH-változással szemben pufferozza /BAKER és SMITH, 1969; PAPANASTYLIANOU és PUCKRIDGE, 1981; HEANES, 1982; TABOR et al., 1984/.

A kloridionok zavarását Ag-sók oldatával végzett kivonással lehet csökkenteni, akár kolorimetricus, akár potenciometrikus meghatározásra kerül sor a későbbiekben /JOHNSON és ULRICH, 1950; SØRENSEN, 1956; PAUL és CARLSON, 1968; SZMIRNOV et al., 1981/.

Egyes esetekben híg CuSO_4 - Ag_2SO_4 -oldatot /BARKER, 1973; SCHOUWENBURG és WALINGA, 1978; NOVOZAMSKY et al., 1973/, CuSO_4 -oldatot /Futtermittel, NDK-szabvány, 1972; BARKER, 1973/, és KCl -oldatot /TVG-módszerfüzet, 1978/, valamint híg savakat, pl. 2 %-os ecetsavat /BARKER, 1973; PRASAD és SPIERS, 1984; SZÜCS, 1984/, 0,1 N H_2SO_4 -t /STÄHLBERG, 1984/, 0,1 N HCl -t /BARKER, 1973/ is használnak kivonásfőz.

Néhányan alkoholt javasolnak a nitrátok kivonásához, mivel a biokémiai vizsgálatoknál ez szokásos. Az alkohol a proteinek nagymértékben kicsapja, így zavaró hatásuk ezzel a kivonószertel minimálisra csökkenthető /VARNER et al., 1953; BARKER és RICHARD, 1964/.

A kivonást általában szobahőfokon rázatással végzik. JOHNSON és ULRICH /1950/ szerint 5 perces, BARKER /1973/ szerint 10 perces rázatási idő elég a nitrát kioldására. 5 percnél rövidebb rázatás után 5-10 %-kal kevesebb nitrátot lehetett kimutatni, 10 percnél hosszabb rázatási időt pedig - zavaró hatású anyagok esetleges kioldódása miatt - nem tartanak előnyösnek. A szakirodalomban azonban - gyakorlati okokból - 60 percig terjedő rázatási időtartamokat is megadnak /SØRENSEN, 1956; LOWE és HAMILTON, 1967; PAUL és CARLSON, 1968; BAKER és SMITH, 1969; Futtermittel, NDK-szabvány, 1972; BARKER, 1973; SCHOUWENBURG és WALINGA, 1978; PAPANASTYLIANOU és PUCKRIDGE, 1981; DUBINA et al., 1982; HEANES, 1982; NOVOZAMSKY et al., 1983; PRASAD és SPIERS, 1984; TABOR et al., 1984/.

Vannak olyan eljárások is, melyeknél a kivonást nem rázatással, hanem szoba- vagy annál magasabb hőfokon /legtöbbször forrásban levő vízfürdőn/, 30 perctől egészen 24 óráig tartó digerálással, esetleg több perces forralással végzik /LONTAI et al., 1967; CATALDO et al., 1975; USHER és TELLING, 1975; VDOVINA és MEDVEDEVA, 1979; A növényvizsgálatok ... 1981; SZMIRNOV et al., 1981; TANAKA et al., 1982; STÅHLBERG, 1984; KALBASI és TABATABAI, 1985/.

A légszáraz, darált mintából kivonat készítéséhez általában 200-1000 mg-ot, friss, homogenizált növényi anyagból 1-10 g-ot mérnek be. A kivonó-szer szokásos mennyisége a növény minta 25-250-szerese légszáraz, ill. 5-40-szerese friss növényi anyagnál /VARNER et al., 1953; SØRENSEN, 1956; MORRIS és GONZÁLEZ-MÁS, 1958; LOWE és HAMILTON, 1967; PAUL és CARLSON, 1968; BAKER és SMITH, 1969; BARKER, 1973; DOMOKI és SOHÁR, 1976; SCHOUWENBURG és WALINGA, 1978; VDOVINA és MEDVEDEVA, 1979; PASTYLIANOU és PUCKRIDGE, 1981; DUBINA et al., 1982; HEANES, 1982; TANAKA et al., 1982; NOVOZAMSKY et al., 1983; PRASAD és SPIERS, 1984/.

A kivonatot legtöbb esetben szűrővel választják el a növényi anyagtól /JOHNSON és ULRICH, 1950; SORENSEN, 1956; MORRIS és GONZÁLEZ-MÁS, 1958; LONTAI et al., 1967; LOWE és HAMILTON, 1967; PAUL és CARLSON, 1968; BAKER és SMITH, 1969; SCHOUWENBURG és WALINGA, 1978; VDOVINA és MEDVEDEVA, 1979; A növényvizsgálatok ... 1981; HEANES, 1982; TANAKA et al., 1982; NOVOZAMSKY et al., 1983; TABOR et al., 1984; PRASAD és SPIERS, 1984/, egyes esetekben centrifugálják /JOHNSON és ULRICH, 1950; CATALDO et al., 1975; DUBINA et al., 1982/, vagy a potenciométrikus mérésekhez - ritkán - szűrés nélkül használják fel /TABOR et al., 1984/.

A növényminták kivonatának derítése

A fotometrálasos eljárásoknál igen sok esetben színteleníteni, ill. deríteni kell az oldatokat, bár eléggé híg oldatok esetében, egyes módszerek-nél, nem iktatják be ezt a műveletet a meghatározás menetébe.

Az eljárások egy részénél fizikai úton derítik a kivonatokot, pl. ülepítik /ROBARGE et al., 1983/, vagy centrifugálják /WOOLLEY et al., 1960; HAMANO et al., 1983/. Az automata analizátorokban dializáló egység különíti el a nagymolekulájú szerves anyagokat a fotometrálandó oldattól /TERREY, 1966; KAMPHAKE et al., 1967; LITCHFIELD, 1967; LOWE és HAMILTON, 1967; HENRIKSEN és SELMER-OLSEN, 1970; STAINTON, 1974; NOVOZAMSKY et al., 1983; RICE et al., 1984; ROWLAND et al., 1984/. Több szerző aktív szén javasol az oldatok színtelenítésére /BARKER, 1973; DOMOKI és SOHÁR, 1976; HEANES, 1982/. A szén azonban - minőségétől függően - részben vagy teljesen adszorbeálhatja a nitrátionokat. Ezzel kapcsolatban HEANES /1982/ felhívja a figyelmet az aktív szén minőségének fontosságára és előkezelésének szükségességére.

Régebben, amikor nem automata analizátorral történt a nitrát meghatározása, H_2O_2 -t használtak az oldatok színtelenítésére /JOHNSON és ULRICH, 1950; MORRIS és GONZÁLEZ-MÁS, 1958/. A főlöslégekben maradt H_2O_2 -t a színtelenítési művelet elvégzése után el kell távolítani az oldatból, ami nagyon körültekintő munkát igényel, s nem is minden módszernél alkalmazható. Újabban a csapadékos derítési eljárások terjedtek el szélesebb körben, pl. $Al(OH)_3$ /CAWSE, 1967; KGST-vizvizsg...., 1968/, $K-Fe(II)$ -cianid + $ZnSO_4$ /GRAU és MIRNA, 1957; DUBINA et al., 1982/, $CuSO_4$ + NaOH /VDOVINA és MEDVEDEVA, 1979/, melyeknél a derítés elvégzése után a csapadékot szűrővel vagy centrifugálással lehet eltávolítani. A csapadékos derítési eljárásoknál azonban arra is ügyelni kell, hogy a keletkezett kocsonyás állagú csapadékok némi nitrátvesztést is okozhatnak, ezért ezt a műveletet is célszerű a standard oldatokkal is elvégezni /USHER és TELLING, 1975/.

A nitrátionok meghatározására szolgáló módszerek

Ezeket a módszereket az analízishez felhasznált alapelv szerint fizikai-kémiai, és kémiai alapelven nyugvó módszerekre oszthatjuk fel. Az első csoportba sorolhatjuk az ionkromatográfiás, polarográfiás, UV-spektrofotometriás és potenciometrikus eljárásokat. Az analitikai kémiai eljárások a gravimetria, titrimetria, de főként a kolorimetria körébe tartoznak.

A *fizikai-kémiai* alapelven nyugvó eljárások mindegyikéhez speciális műszerek szükségesek, ami költségessé teszi ezeket a vizsgálatokat.

1. Az *ionkromatográfiás* eljáráshoz speciális anion- és kationcserélő oszlopra, sőt igen kis ionkoncentrációk méréséhez ún. dúsitó feltételre is szükség van. Az oszlopról eluált anionok mennyiségét vezetőképességmérő cellával határozzák meg. /Ma már ezen az elven működő készülékek is vannak forgalomban./ Az eljárás előnye, hogy egymás mellett több aniont lehet ugyanabból az oldatból egyidejűleg meghatározni /pl. NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Cl^- /, igen kis koncentrációkban is. Általában 300-500 $\mu\text{g/l}$ mennyiségben, de dúsitás után 1 $\mu\text{g/l}$ körüli mennyiségeket is határoznak meg /RESCH és GRÜNSCH-LÄGER, 1982; KALBASI és TABATABAI, 1985/.

2. A nitrátionok *polarográfiás* meghatározása azon alapul, hogy csepegő higanyelektródon, enyhén savas közegben, uranil-acetát katalizáló hatására redukálódnak. Ezzel az eljárással 5-30 mg/l nitrátot tartalmazó oldatokat lehet elemezni. Bár az eljárás nagyon pontos, szériavizsgálatokra - időigényessége miatt - nem tartják alkalmasnak. Hátránya továbbá, hogy a módszer nitrátionokra nem specifikus. Elsősorban a nitrítionok /0,2 mg/l fölötti koncentrációban/, de mindazon elemek is zavaróak, melyek a csepegő higanyelektróddal reakcióba lépnek, ill. leválási potenciáljuk közel esik az uranilionok második féllépcső potenciáljához. Zavaró hatása van a nagyobb mennyiségben jelenlévő szerves anyagoknak is /MULLIN és RILEY, 1955; KAMPHAKE et al., 1967; KGST vízvizsg. ..., 1968/.

3. Az *UV-spektrometriás* módszert egyszerűnek és rendkívül gyorsan kivitelezhetőnek tartják. A meghatározáshoz azonban egy, az UV-tartományban történő mérésekhez alkalmas fotométerre van szükség. Az oldatban levő nitrátionok UV-tartományban két abszorpciós maximummal rendelkeznek: 210 és 300 nm-nél. A két csúcs közül a 210 nm-hoz közel eső hullámhosszknál kb. 1000-szer érzékenyebb a módszer, mint a 300 nm körülieknél /CAWSE, 1967; MILES és ESPEJO, 1977; HEANES, 1982/.

A nitrátionok UV-tartományba eső fényabszorpcióját vizes oldatban is jól lehet mérni, de azt tapasztalták, hogy savanyú közegben a nitrit- és a Fe/III/-ionok zavaró hatása, valamint a baktériumok tevékenysége visszaszorul. Ezért újabban az eredetileg a potenciometrikus mérésekhez javasolt 0,025 mól/l Al-szulfát oldatot ennél a módszernél is használják kivonószerként /CAWSE, 1967; HEANES, 1982/.

Zavarást ennél a módszernél elsősorban a nitritionok okoznak, mert abszorpciós maximumuk az UV-tartományban csak néhány nm-rel tér el a nitrátionokétól. Hatásukat némileg csökkenteni, hogy az abszorpciós maximumnál az UV-fényt kb. fele olyan intenzíven nyelik el, mint a nitrátionok. Eltávolításukra szulfaminsavat adagolnak az oldatokhoz. Azonban magának a szulfaminsavnak is van az UV-tartományba eső abszorpciós maximuma /192 nm körül/, s ezt nem lehet figyelmen kívül hagyni.

A Fe/III/-ionok főként talajkivonatokban fordulnak elő olyan mennyiségben, hogy zavarásukkal számolni kell.

Ezenkívül jelentős zavaró hatást fejtenek ki a kivonatokba került szerves anyagok. Eleinte úgy vélték, hogy az általuk okozott elszíneződés zavarja a meghatározást, de számos mérés eredményeként kiderült, hogy a szerves

molekulák egy része is fényt nyel el az UV-tartományban, s ezek abszorpciós maximuma sem esik távol a nitrátiókéétól. Ezért úgy módosították az eljárást, hogy nemcsak 210 nm-nél, hanem egy valamivel magasabb hullámhosszon /255 vagy 275 nm-nél/ is elvégzik a fotometráltást, s a két mérés különbségéből számítják ki a kivonatok nitráttartalmát. Ezzel a módosítással HEANES /1982/ eredményei jobban egyeztek a potenciometrikus úton meghatározott nitrát-adatokkal, mint amikor a szervesanyag-tartalmat nem vette figyelembe /MILES és ESPEJO, 1977; HEANES, 1982/.

A kloridok jelenléte ezt a meghatározási módot még akkor sem zavarta, amikor 1 mg/l $\text{NO}_3\text{-N}$ mellett 100 mg/l NaCl volt jelen az oldatban /CAWSE, 1967; MILES és ESPEJO, 1977/.

4. A fiziko-kémiai módszerek közül a legelterjedtebb a nitrát *potenciometrikus* meghatározása. Az eljárás egyszerű, gyors, automatizálható, ezért nagy sorozatokban végzendő mérésekhez alkalmas. Lényeges előnye szinte valamennyi nitrát-meghatározási eljárással szemben, hogy a mintákból készített kivonatokban széles koncentráció-tartományban, közvetlenül végezhető el a mérés. Így például, PAUL és CARLSON /1968/ 1-50 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$, BAKER és SMITH /1969/ 10-100 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$, SZMIRNOV és munkatársai /1981/ 1,4-1400 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$, NOVO-ZAMSZKY és munkatársai /1983/ 1-300 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ $\text{NO}_3\text{-N}$ -tartományban végezték méréseiket. A mérést még az is gyorsíthatja, hogy szűrés nélkül is elvégezhető. Feltehető azonban, hogy a szűrés elhagyása az elektródok élettartamát jelentősen csökkentheti, ezért a legtöbb leírás szerint szűrt oldatokat használnak a potenciometrikus meghatározáshoz is /PAUL és CARLSON, 1968; BAKER és SMITH, 1969; BARKER, 1973; SZMIRNOV et al., 1981; TABOR et al., 1984/.

A zavaró hatások kiküszöbölése érdekében híg sóoldatokkal készített kivonatokban is jól lehet ionszelektív elektródokkal mérni, még abban az esetben is, ha a kivonószert valamelyik ionja zavar /pl. a szulfát-, vagy a citrátion/, mert a zavaró ionok koncentrációját a standard oldatokban a kivonatokkal azonos szinten tartják /PAUL és CARLSON, 1968; BAKER és SMITH, 1969; BARKER, 1973/.

A fizikai-kémiából ismert összefüggés szerint az elektródok közötti potenciál-különbség a mérendő ion aktivitásának, ill. híg oldatok esetében koncentrációjának függvénye. Nagyon híg - 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ $\text{NO}_3\text{-N}$ -nél kevesebb nitrátot tartalmazó - oldatokban mégsem lehet a nitrát-koncentrációt biztosan meghatározni, mert az elektródok lassan reagálnak, a műszer beállási ideje hosszú, a végpont nem jól észlelhető. 10-15 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ $\text{NO}_3\text{-N}$ -koncentráció felett már pár másodperc elég a műszer beállításához, s a leolvasás biztossá válik. Kis koncentrációkat ezért adíciós módszerrel szoktak meghatározni /PAUL és CARLSON, 1968; BAKER és SMITH, 1969; BARKER, 1973; SCHOUWENBURG és WALINGA, 1978; SZMIRNOV et al., 1981; LI és SMITH, 1984/.

A potenciometrikus méréseknél fontos szerepet játszik a mérendő oldatok ionerőssége is. Ennek állandó, vagy megközelítően állandó voltát úgy érik el, hogy ún. ionerősség-beállító /ISA/ oldatokat adagolnak a kivonatokhoz, vagy már ilyen oldattal /pl. 0,025 M Al-szulfát oldat/ végzik a kivonást.

Az ionspecifikus elektródok bármennyire specifikusan reagálnak is az általuk mérendő ionokra, más ionok jelenlétében is jelezhetnek feszültségkülönbséget, s így a mérendő ion koncentrációját nem jelzik pontosan. A nitrátspecifikus elektródoknál a HCO_3^- , a NO_2^- és a Cl^- ionok, valamint a szerves anionok zavaró hatása játszik jelentősebb szerepet. Míg a HCO_3^- ionoknak és a szerves savak anionjainak zavaró hatását az Al-szulfátos kivonószerezrel, a NO_2^- ionokét pedig szulfaminsav adagolásával lehet kiküszöbölni, addig a Cl^- ionok zavaró hatásának kiküszöbölése bonyolultabb. A Cl^- ionok eltávolítására használt Ag^+ ionok ugyanis szintén zavarják a poten-

ciometrikus mérést. Irodalmi adatok szerint a növényekben általában 0,5-2,0 % Cl^- -tartalom fordulhat elő. Egyesek szerint 0,35-1,0 % Cl^- -tartalom még nem zavarja a potenciometrikus mérést. Mások szerint a Cl^- -ionok zavaró hatása a jelenlévő NO_3^- mennyiségétől is függ: sok NO_3^- mellett több Cl^- lehet jelen, anélkül, hogy jelentősebb zavaró hatást lehetne észlelni. Mivel sok esetben fiatal növények nitráttartalmát mérik - a fiatal növények pedig viszonylag sok nitrátot tartalmaznak, Cl^- viszont csak kis mennyiségben van bennük jelen - egyes kutatók szerint a kivonatok Cl^- -tartalmával nem szükséges törődni. Mások szerint a Cl^- -ionok zavarásának csökkentése érdekében hígabb kivonatok és/vagy Hg_2SO_4 -referencia elektródot kell a potenciometrikus mérésnél használni. Mivel azonban a növények Cl^- -ion-tartalma szélsőséges esetben a 10 %-ot is elérheti, a nitráttartalom mérése előtt ezt a tényezőt is meg kell vizsgálni /PAUL és CARLSON, 1968; BARKER, 1973; SCHOUWENBURG és WALINGA, 1978/.

A nitrátionok potenciometrikus meghatározásánál lényeges a kivonatok és standard oldatok készítéséhez jó minőségű és azonos időpontban készült desztillált vizet használni. A hőmérséklet is hatással van a mért potenciálra, ezért mérés előtt valamennyi oldatot /a standardokat is/ célszerű hosszabb időn /1-2 órán/ át abban a helyiségben tartani, ahol a mérést végezni fogják. Az oldatokat mérés közben keverni kell, mert így sokkal gyorsabban áll be a műszer mutatója. Ugyanakkor ügyelni kell arra, hogy a keverőtől ne melegegjenek fel az oldatok. Bár a potenciometrikus méréseknél használt elektródok általában széles pH-tartományban /2-12 pH/ tudnak mérni, a zavaró hatások csökkentése érdekében gyakran savanyú közeget javasolnak a mérés elvégzéséhez /PAUL és CARLSON, 1968; BAKER és SMITH, 1969; BARKER, 1973; SCHOUWENBURG és WALINGA, 1978; SZMIRNOV et al., 1981; NOVOZAMSKY et al., 1983/.

A kémiai módszerek közül a kolorimetriás, ill. fotometriás, és a Kjeldahl-típusú eljárások játsszák a legfontosabb szerepet, bár dolgoztak ki gravimetriás /nitronnal végzett - FRIES és GETROST, 1975/ és titrimetriás /indigókarminnal végzett - Ivóvízvizsg. Szabvány, 1982/ eljárásokat is a nitrátionok meghatározására. Ezeket a módszereket főleg a sok nitrátot tartalmazó vizek elemzésére használják.

A Kjeldahl-módszernél a nitrátot végső soron titrálással határozzuk meg, NH_4^+ -ionná történt redukálás és desztillálás után. Ennél az eljárásnál - éppúgy, mint a fotometrálasos eljárások egy részénél is - a nitrátionok megfelelő, kvantitatív redukciója okozza a fő problémát. A hagyományos, Kjeldahl-féle roncsolásnál ugyanis a szerves N-tartalmu vegyületek közül csak a N-H- és N-C-kötéseket tartalmazók nitrogénje alakul át NH_4^+ -vá. A N=N és N=O csoportokban kötött N /ide tartoznak a nitrátok és nitritek is/ csak fenolkénsavval, Na-ditionit+kénsavval, Se+kénsavval, szalicilsav+kénsavval, Na-tioszulfát+kénsavval, stb. végzett roncsolás után alakul át $\text{NH}_4^+/\text{SO}_4^{2-}$ -tá.

A már oldatban /kivonatban levő nitrátot /és nitritét is/ savanyú közegben $\text{Fe}/\text{II}/$ -szulfáttal, lúgos közegben Dewarda-ötvozzettel és semleges közegben ún. Arnd-féle $\text{Cu}+\text{Mg}/$ ötvozzettel lehet NH_4^+ -vá redukálni, majd vízgőzdesztillációval a reakcióelegyből egy savat tartalmazó szedőbe átdesztillálni és megtitrálni. Figyelemmel kell azonban lenni arra, hogy ezeknél a meghatározásoknál a kivonatokban levő NO_2^- és NH_4^+-N is meghatározásra kerül. Ha a vízgőzdesztillálás előtt a kivonatot rövid ideig szulfaminsavval rázzuk össze, akkor a nitritek elbomlanak. Majd MgO -dal enyhén meglúgosítva az oldatot, az NH_4^+-N -t vízgőzzel ki lehet hajtani. Ezután kerülhet sor a NO_3^- -ionok redukálására és meghatározására. A növényekből kioldódó egyéb anyagok ennél az eljárásnál nem zavarják /VARNER et al., 1953; ERDEY, 1953; BARKER és RICHARD, 1964; AOAC-módszerkönyv, 1970; BARKER, 1973; DALAL et al., 1984/.

A *colorimetriás* eljárások egy része azon alapszik, hogy a NO_3^- -ionok segítségével olyan vegyületeket nitrálnak vagy oxidálnak /pl. xilenolt, Na-szalicilátot, brucint, difenilamint stb./, melyek a reakció végtermékeként színes, fotometrálnálható vegyületeket adnak. A másik csoportba tartoznak azok az eljárások, melyeknél a NO_3^- -ionokat először NO_2^- -ionokká kell redukálni és kimutatásuk tulajdonképpen ebben a formában történik.

A növényi anyagok nitráttartalmának meghatározására "standard" eljárás-ként a *xilenolos* módszert használták, sőt használják még ma is /HOLLER és HUCH, 1949; BARNES, 1950; SØRENSEN, 1956; BALKS és REEKERS, 1960; LEWIS, 1961; Futtermittel, NDK-Szabvány, 1972; BARKER, 1973; MILES és ESPEJO, 1977; SCHOUWENBURG és WALINGA, 1978; NOVOZAMSKY et al., 1983; STÅHLBERG, 1984/. A meghatározás azon alapszik, hogy xilenolt /2,4- 3,4- ill. 2,6-dimetil-fenolt/ koncentrált kénsavas közegben nitrálnak, s a keletkezett nitro-xilenolt desztillációval /legtöbbször vízgőzdesztillációval/ vagy extrakcióval /pl. dietil-éterrel, toluollal stb./ nyerik ki a reakcióelegyből. A nitro-xilenolt ezután lúggal /általában NaOH-val/ hozzák össze. A keletkező Na-só adja azt a színes vegyületet, mely fotometrálnálható.

Az egyes xilenoloknak ehhez a meghatározáshoz való alkalmasságát HOLLER és HUCH /1949/ vizsgálta részletesen. Vizsgálataik szerint a nitrálás elvégzéséhez a régebben kizárólagosan használt 2,4-xilenolnál a 3,4-xilenol alkalmasabb. Ennek ellenére számos laboratórium továbbra is megmaradt a 2,4-xilenol használata mellett.

A xilenolok nitrálási reakciójának körülményeit és a növényi anyagok vizsgálatánál betartandó feltételeket SØRENSEN /1956/ ismerteti részletesen. Vizsgálatai kiterjedtek a nitráláshoz szükséges xilenol mennyiségének, a felhasználandó kénsav töménységének, a nitrálási reakció időtartamának és hőfokának meghatározására, de nem hagyta figyelmen kívül a nitro-xilenol vízgőzdesztillációjára, ill. a meghatározás pontosságára zavaróan ható szerves és szervetlen anyagokat sem.

A nitrátionok kimutatására szélesebb körben használják a *Na-szalicilátos* eljárást is. Ennél az eljárásnál a nitrátokat tömény savas /kén- vagy triklórecetsavas/ közegben használják fel a szalicilátionok nitrálására. A reakció során keletkezett nitro-szalicilsav, ill. Na-sója erősen lúgos /pH 12 körüli/ közegben sárga színű vegyületet ad /KGST Vízvizsg., 1968; Szennyvíz-vizsg. Szabvány, 1971; CATALDO et al., 1975; FRIES és GETROST, 1975; Ivóvízvizsg. Szabvány, 1982; ROBARGE et al., 1983/. A meghatározás kétféleképpen végezhető: az egyik mód szerint a vizes kivonatot Na-szalicilát oldattal szárazra párolják, majd a bepárolt mintához adják a tömény savat, rövid reakcióidő bevétele után pedig a lúgot /KGST Vízvizsg., 1968; Szennyvíz-vizsg. Szabvány, 1971; FRIES és GETROST, 1975/. A másik módozat szerint igen kis mennyiségű /0,2-0,5 cm³/ vizes kivonathoz 3-4-szeres mennyiségben szalicilsavat tartalmazó tömény kénsavat adnak, majd rövid idő múlva meglúgosítják az oldatot /CATALDO et al., 1975; ROBARGE et al., 1983/. Az utóbbi módozatnál a bepárlás hosszadalmas műveletét sikerült kiiktatni.

A Na-szalicilátos eljárással a nitrátionokat viszonylag széles koncentráció-tartományban /1-200 µg NO_3^- /cm³/ lehet meghatározni. Ha az oldatok töményebbek, akkor - bizonyos feltételek mellett - magát a színes oldatot desztillált vízzel lehet hígítani, s így a meghatározást nem kell előlről kezdeni.

A módszer bármelyik változatával dolgozzunk is, zavarhatnak a szerves anyagok /ezért javasolnak kénsav helyett triklórecetsavat a Szennyvíz-vizsgálati Szabványban /1971/ és a kivonatokban elszíneződést okozó egyéb anyagok /utóbbiakat pl. $\text{Al}(\text{OH})_3$ -szuszpenzióval lehet eltávolítani a KGST Vízvizsg. /1968/ szerint/. A Fe/II/-ionok 5 mg/l mennyiségben kevés nitrát jelenlétében /10 mg/l NO_3^- -koncentráció alatt/ már jelentős hibát okozhatnak:

eltávolításuk kationcserélő oszloppal történhet /KGST Vízvizsg., 1968; Szennyvíz-vizsg. Szabvány, 1971; Ivóvízvizsg. Szabvány, 1982/. A nitrit zavaró hatásával kapcsolatban eltérőek a vélemények: egyesek még 20 mg/l nitrit hatását is elhanyagolhatónak tartják /CATALDO et al., 1975; Ivóvíz-vizsg. Szabvány, 1982/, mások szerint 1-2 mg/l-nél több nitrit jelenléte már zavarja a meghatározást /KGST Vízvizsg., 1968; ROBARGE et al., 1983/. A nitrit eltávolítására Na-azidot vagy NH_4 -perszulfátot ajánlanak /KGST Vízvizsg., 1968; Szennyvízvizsg. Szabvány, 1971; FRIES és GETROST, 1975/. A Cl^- , valamint a I^- , Br^- és F^- -ionok a sárga színű komplex színintenzitását csökkentik. Bár az egyes szerzők által megadott megengedhető Cl^- -ion koncentrációk jelentősen eltérnek egymástól, mégis az látható, hogy elég nagy /500-1000 mg/l/ Cl^- -ion mennyiségek mellett még eléggé pontos eredményeket lehet ezzel a módszerrel kapni /CATALDO et al., 1975; Ivóvízvizsg. Szabvány, 1982; ROBARGE et al., 1983/.

Elterjedten használták még a *fenoldiszulfonsavas* módszert, először vizek, majd talajkivonatok, végül pedig növényi kivonatok nitráttartalmának meghatározására. Az eljárás a fenoldiszulfonsav nitrálásán alapszik, s a keletkezett nitro-fenoldiszulfonsav NH_4^- , Na- vagy K-sója sárga színű, fotometrárlható oldatot ad.

A meghatározást növényi kivonatok esetében szerves anyagok, kloridok és nitritek zavarják /JOHNSON és ULRICH, 1950; LONTAI et al., 1967; BARKER, 1973/.

A szerves anyagok egyrészt saját színüknél fogva, másrészt tömény kén-savas közegben lejátszódó elszénesedésük miatt, zavarnak. Utóbbi folyamat hatása még az is, hogy a nitrátok egy része redukálódik. A kloridok /10 mg/l-nél nagyobb mennyiségben/ a fenoldiszulfonsavval illékony nitrozil-kloridot képeznek, amivel együtt a nitrát jelentős, de esetenként változó mennyisége távozhat az oldatból /JOHNSON és ULRICH, 1950; BARKER, 1973/. A nitritek a meghatározás bizonyos lépéseinél nitráttá oxidálódhatnak, s ezzel megemelik a kimutatható nitráttartalmat /KGST Vízvizsg., 1968/.

A zavaró hatások kiküszöbölésére a szerves anyagok esetében aktív szennet /BARKER, 1973/, H_2O_2 -t /JOHNSON és ULRICH, 1950/ és $\text{Al}/\text{OH}/_3$ -t /KGST Vízvizsg., 1968/, a kloridok esetében Ag- vagy Cu+Ag-sók híg oldatait /JOHNSON és ULRICH, 1950; KGST Vízvizsg., 1968; BARKER, 1973/, a nitritek esetében KMnO_4 -tal végzett oxidációt javasolnak /KGST Vízvizsg., 1968/.

Növényi anyagok, ill. kivonatok NO_3^- -N-tartalmának fotometriás úton történő meghatározására még számos más módszer is használatos, mint pl. a kén-sav + Fe/II/-szulfátos /SWANN és ADAMS, 1956; MORRIS és GONZÁLEZ-MÁS, 1958/, a difenilaminos /BARKER, 1973/, a brucinós /KGST Vízvizsg., 1968; BARKER, 1973/, a kronotrópsavas /BARKER, 1973; FRIES és GETROST, 1975/, a sztrichnines /BARKER, 1973/, a 2-sec-butilfenolos /TANAKA et al., 1982/, a 4-fluorfenolos /FRIES és GETROST, 1975; WAGNER és RUCK, 1981/, a kristály-ibolyás módszer /BACA és FREISER, 1977/ stb.

A kolorimetriás meghatározási eljárások másik csoportja a nitrátoknak nitritekké történő redukálásán, majd a redukált ionok kolorimetriás meghatározásán alapszik.

A NO_3^- -ionokat egyszerűen és gyorsan lehet az igen érzékeny, GRIESS és ILOSVAY által összeállított reagenssel kimutatni /ERDEY, 1953/. Ez a minőségi analízisben régóta ismert kimutatási mód a kiindulópontja azoknak az eljárásoknak, melyekkel a NO_3^- -ionokat redukció után ugyanezzel a reagenssel /ill. ennek változataival/ mennyiségileg határozzák meg.

Ezeknek a módszereknek a legnehezebben kézben tartható lépése a NO_3^- -ionok NO_2^- -ionokká történő redukálása. Olyan redukálószerre van szükség, mely az analitikai műveletek során könnyen kezelhető, s mely a NO_3^- -ionokat teljesen /de legalábbis eléggé nagy mennyiségben és reprodukálhatóan/ redukálja

NO_2^- -ionokká, s ugyanakkor nem redukálja a keletkezett NO_2^- -ionokat tovább. Az analitikai gyakorlatban ehhez a redukcióhoz eleinte amalgámokat, majd cinket, kadmiumot, hidrazinszulfátot, s legújabban nitrát-reduktázt tartalmazó enzimes készítményeket használnak.

A GRIESS és ILOSVAY által a NO_3^- -ionok minőségi kimutatására leírt eljárás szerint redukálószerként Zn-pórt alkalmaztak. Ezt kísérelték meg a mennyiségi meghatározásnál is bevezetni. Többen enyhén savanyú vagy gyengén lúgos közegben Zn-pórt adtak a NO_3^- -tartalmú oldatokhoz, de nem értek el vele jó eredményt /NELSON et al., 1954; MULLIN és RILEY, 1955; GRAU és MIRNA, 1957; MIDDLETON, 1959/.

Az eredményekből arra is lehetett következtetni, hogy a Zn-por a keletkezett NO_2^- -ionokat gyorsan tovább redukálja. Ezért WOOLLEY és munkatársai /1960/ és ennek nyomán LONTAI és munkatársai /1967/ olyan reakciókeveréket adagoltak a meghatározandó oldathoz, mely a redukálószer mellett a színeképző reagenseket is tartalmazta, s így a keletkezett nitrít azonnal reagálhatott a szulfanilsav + l-naftilaminnal. LONTAI és munkatársai /1967/ azonban ennek az eljárásnak a reprodukálhatóságával nem voltak megelégedve, s csak azokban az esetekben alkalmazták a továbbiakban, amikor más módszerrel nem tudták a nitrátot meghatározni. Tapasztalatuk szerint a növényi kivonat csak rövid ideig /másodpercekig/ érintkezhet a reakciókeverékkel, s a színes oldatot szűrővel vagy dekantálással gyorsan el kell választani attól. Ellenkező esetben a színintenzitás csökken. A növényi kivonat szervesanyag-tartalmának zavaró hatására is felhívták a figyelmet, mely 6 mg/cm^3 -nyi mennyiségben már 40 %-os extinkciócsökkenést okozhat. HEANES /1975/ vizsgálatai alapján megállapította, hogy a redukcióhoz használt Zn-por szemcsenyagysága, mennyisége, minősége és összetétele, valamint a redukcióra fordított idő jelentős befolyással bírnak és figyelmen kívül hagyásuk megbízhatatlan eredményekhez vezet. HEANES /1975/ tapasztalatai sokban megegyeztek WOOLLEY és munkatársai /1960/, valamint LONTAI és munkatársai /1967/ tapasztalataival, s, hogy a redukciókor keletkezett nitrítet mielőbb reagáltathassa a színeképző anyagokkal, a szűrletet a színelőhívó reagensben fogta fel.

A redukcióhoz a cinken kívül megkísérelték Ag, Cd, Cu, ill. ezek kombinációit felhasználni. A legjobb eredményeket a fém kadmiummal érték el, melyet könnyebb kezelhetőség és ismételt felhasználhatóság céljából ioncserélő oszlopban helyeztek el.

A Cd-oszloppal végzett redukciót megbízhatónak tartják, hatásfoka esetenként a 100 %-ot is elérheti. Az oszlopot az ioncserélőkhöz használatos üvegcsövekben, tiszta, jó minőségű granulált kadmiumból /Merck, Fluka stb. gyártmány/, vagy CdSO_4 -oldatból Zn-rudakkal kinyert fém kadmiumból, a megfelelő szemcsenyagúságú /0,4-0,8 mm/ frakció elválasztása után készítik el. Még alkalmasabbnak tartják a redukció céljára a rezegett Cd-szemcséket /Cu + Cd/, melyeket a Cd-szemcsék CuSO_4 -oldattal való kezelése útján állítanak elő. A Cd- ill. a Cu-Cd-oszlopokon végzett redukciónál az oszlopra felvitt oldatoknak semleges, ill. lúgos kémhatásúaknak kell lenniük. Általában valamilyen pufferoldattal 8,5-9,6 pH-érték közé állítják be a vizsgálandó és a standard oldatok, valamint az egyes minták között használt mosófolyadék pH-ját. Emellett szem előtt kell tartani az átcsepegő oldatok átfolyási sebességét is: a sebességnek részint elég lassúnak kell lennie ahhoz, hogy a redukció megfelelő mértékben végbemenjen, részint elég gyorsnak ahhoz, hogy megfelelő számú mintát lehessen megvizsgálni egy munkanap alatt, végül pedig egy munkanapon belül állandónak kell lennie, mert csak így várható el, hogy a redukció hatásfoka a standard és a vizsgálandó oldatoknál azonos legyen. Az egyes minták között az oszlopok átmosására használt folyadék térfogatát és az átmosások számát esetenként kell megállapítani. Ha az egyes oszlopok hatásfoka jelentősen romlik, akkor az oszlopot regenerálni kell. Ezt a műveletet egy-egy oszlopnál 3-4 alkalommal lehet elvégezni, de

minden regenerálás után egyre rövidebb ideig fog az oszlop jó hatásfokkal működni /GRAU és MIRNA, 1957; AOAC Módszerkönyv, 1970; HENRIKSEN és SELMER-OLSEN, 1970; TECHNIKON-Auto-Analyzer módszerei, 1971; STANTON, 1974; USHER és TELLING, 1975; VDOVINA és MEDVEDEVA, 1979; HUFFMAN és BARBARICK, 1981; NOVOZAMSKY et al., 1983; SZŰCS, 1984/.

A kadmiummal redukált NO_3^- -ionok meghatározását számos szerves és szervetlen ion jelenléte zavarja bizonyos koncentráción felül: így pl. mérték a kloridok, szulfátok, foszfátok, bikarbonátok, szénhidrátok, szerves- és aminosavak, primér aminok és az R-SH-kötést tartalmazó vegyületek zavaró hatását /GRAU és MIRNA, 1957; AOAC Módszerkönyv, 1970; HENRIKSEN és SELMER-OLSEN, 1970; USHER és TELLING, 1975; HUFFMAN és BARBARICK, 1981; NOVOZAMSKY et al., 1983/.

Szérvizvizsgálatokhoz több oszlopból álló egységet használnak, melyet az egyes oszlopok átfolyási sebességének azonos szinten tartása érdekében kis mértékben vízlégszivattyúval szivatnak /GRAU és MIRNA, 1957; USHER és TELLING, 1975/. Nagy számú minta határozható meg az autoanalizátorokkal, melyekben szintén használtak Cd- ill. Cu-Cd-mal töltött reduktorokat /HENRIKSEN és SELMER-OLSEN, 1970; TECHNIKON-Auto-Analyzer módszerei, 1971; STANTON, 1974; NOVOZAMSKY et al., 1983/.

A fém redukálószerrel - még a jó hatásfokot biztosító Cd- ill. Cu-Cd-oszlopokkal sem - voltak az analitikai laboratóriumokban mindig megelégedve. A manuális módszereknél az analízishez szükséges idő elhúzódik, az autoanalizátoroknál a reduktorok megfelelő méretben történő előállítása bonyolult és a szilárd fémport tartalmazó csövek áramlási ellenállása nagy. Ezért terelődött a figyelem a gyenge redukáló hatást kifejtő hidrazinszulfátra, mely lúgos közegben, kis mennyiségű Cu, mint katalizátor jelenlétében, jó hatásfokkal /50-85 %-ban/ redukálja a NO_3^- -ionokat NO_2^- -ionokká.

A hidrazinszulfátot manuális laboratóriumi eljárásoknál is használták redukálószerként /MULLIN és RILEY, 1955; FISHMAN et al., 1964; SAWICKI és SCARINGELLI, 1971/, de az automata analizátorok megjelenésekor fordult feléje igazán az érdeklődés, mivel a többi, eddig használt gyenge redukálószerrel ellentétben, oldat készíthető belőle, s így jól adagolható a műszeres analízisnél /HENRIKSEN, 1965; TERREY, 1966; KAMPHAKE et al., 1967; TVG-Laboratóriumok Módszerei, 1978; ROWLAND et al., 1984/.

A hidrazinszulfáttal végzett redukciót befolyásoló tényezőket többen részletesen vizsgálták, de szinte minden kutató más-más optimális értéket kapott az egyes tényezőkre, aszerint, hogy milyen anyagot kívántak elemezni, s, hogy hagyományos /manuális/ laboratóriumi technikával vagy automata analizátorral dolgoztak-e.

Ezekből a mérésekből megállapítható, hogy a redukció Cu jelenléte nélkül nem indul meg. A Cu-ionok mennyiségének növelésével a redukció hatásfoka egy bizonyos Cu-koncentrációig javul, elér egy maximumot, majd - a manuális eljárásnál - lassan, az autoanalizátoroknál gyorsan romlik /az autoanalizátorokban ugyanis a kiváló CuO eltömíti a kapillárisokat/ /MULLIN és RILEY, 1955; TERREY, 1966; KAMPHAKE et al., 1967; SAWICKI és SCARINGELLI, 1971/. ROWLAND és munkatársai /1984/ azt is kimutatták, hogy nagy mennyiségű szerves anyagot tartalmazó oldatok mérésénél több rezet kell adagolni, mint amennyi a szerves anyagot nem tartalmazó oldatok redukációjánál optimálisnak bizonyult, mivel a Cu-ionok egy részét a szerves anionok komplex alakjában megkötik.

A hidrazinszulfáttal végzett redukció csak lúgos közegben megy végbe: desztillált vízzel készült standard oldatoknál 12-es pH-érték körül mérték a maximális redukciót. Ha azonban természetes vizekkel, talaj- vagy növénykivonatokkal dolgozunk, akkor az optimális pH-t az adott feltételeknek megfelelően ki kell mérni /MULLIN és RILEY, 1955; HENRIKSEN, 1965; KAMPHAKE et al., 1967; SAWICKI és SCARINGELLI, 1971/.

Ugyancsak meg kell vizsgálni a hidrazinszulfát adagolandó mennyiségét is. Ha ugyanis kevés a hidrazinszulfát, akkor az oldatban levő O_2 hatására, még a redukció lefolyása előtt, maga a hidrazinszulfát bomlik el, s rossz lesz a redukció határfoka. Ha viszont az optimális mennyiségnél több van jelen, akkor a redukció nem áll meg a NO_2^- -ionok képződésénél, hanem ezeket tovább redukálja /MULLIN és RILEY, 1955; KAMPHAKE et al., 1967; SAWICKI és SCARINGELLI, 1971; ROWLAND et al., 1984/.

A redukció időtartama és a redukció alatt alkalmazott hőmérséklet szorosan összefügg egymással. Szobahőmérsékleten dolgozva csak több órás állás után kapunk reprodukálható értékeket. Az autoanalizátorok bevezetésével vált szükségessé a redukció idejének lecsökkentése. Ezt a hőmérséklet emelésével érték el. Az optimális hőfokot azonban minden kutató a saját kísérleti feltételeinek megfelelően állapította meg /TERREY, 1966; KAMPHAKE et al., 1967; SAWICKI és SCARINGELLI, 1971/.

A NO_3^- -ionok hidrazinszulfátos redukció segítségével végzett meghatározását számos szerves ion és szerves anyag jelenléte zavarja. A szerves anionok közül elsősorban a Cl^- -ionok, a kationok közül a Ca^{2+} - és Mg^{2+} -ionok, a szerves anyagok közül az aminosavak, szénhidrátok, tanninok stb. zavaró hatását mérték /MULLIN és RILEY, 1955; HENRIKSEN, 1965; ROWLAND et al., 1984/.

Mivel a NO_3^- -ionok meghatározásához felhasznált színreakció a NO_2^- -ionok reakcióján alapszik, a NO_2^- -ionok viselkedését is figyelemmel kell kísérni. Ha csekély az oldatok nitrittartalma, akkor a hidrazinszulfát a redukció során elbontja a nitritet. Ha viszonylag sok van jelen az oldatban, akkor külön is meg kell határozni mennyiségüket és a NO_3^- -tartalom kiszámításánál korrekcióba kell venni. Azt sem felejtethetjük el, hogy a hidrazinszulfát feleslegbe a nitrátról redukcióval keletkezett NO_2^- -ionokat is tovább redukálhatja, ezért a kísérletek során kimért paramétereket pontosan be kell tartani /MULLIN és RILEY, 1955; HENRIKSEN, 1965; TERREY, 1966/. A természetes vizekben és a növények vizes kivonatában sokkal több nitrát van jelen, mint nitrit, ezért utóbbiak zavarása sokkal kevésbé jelentős, mint a laboratóriumban mesterségesen beállított $NO_3^-:NO_2^-$ arányoknál mérhető.

A redukció elvégzése után a még megmaradt hidrazinszulfátot a manuális módszereknél acetonnal bontják el, míg az autoanalizátoroknál ezt a lépést nem tartják feltétlenül szükségesnek /KAMPHAKE et al., 1967; SAWICKI és SCARINGELLI, 1971/.

NASON és EVANS /1953, cit. in: LOWE és HAMILTON, 1967/ abból kiindulva, hogy a nitrát redukciója a növényeken belül is lejátszódó élettani folyamat, javasolták, hogy a redukcióhoz a nitrátionokra nézve specifikus nitrát-reduktáz enzimet használják fel.

Az enzimes készítményeket a legtöbb esetben *Escherichia coli* tenyészetekből állítják elő /HAMANO et al., 1983; RICE et al., 1984/, de előállíthatók nitrátban szegény talajon termesztett szójabab gyökérgümőkiből is /LOWE és HAMILTON, 1967/. Az enzimes készítmények előállítása speciális, munka- és időigényes labortechnikát követel. Ha azonban kész enzimes készítménnyel rendelkezünk, akkor segítségével a redukció - megfelelő körülmények betartása mellett - biztosabban végezhető el, mint a kémiai redukálószerrel. Kisebb mértékben ugyan, de ennél az eljárásnál is zavarnak egyes szerves ill. szerves ionok. Az enzimes redukció jobb /megközelítően 100 %-os/ határfokkal megy végbe, mint a hidrazinszulfátos redukció. Ugyanakkor az enzimes készítmény éppúgy adagolható oldat formájában, mint a hidrazinszulfát, tehát autoanalizátorokban is jól használható.

A fenti eljárások bármelyikével nitritté redukált nitrátot a GRIESS és ILOSVAY által leírt reakció segítségével alakítják színes, fotometrálnálható vegületté. A GRIESS-ILOSVAY-reakció szerint a nitritek híg ecetsavas közegben /pH 4-nél/ szulfanilsav és alfa-naftilamin hozzáadására, bizonyos idő

eiteltével vöröses színeződést adnak. Az ecetsav által felszabadított salétromossav ugyanis a szulfanilsavat diazotálja és a keletkezett diazóniumsó az alfa-naftilaminnal vöröses színű azo-festékké kapcsolódik össze /ERDEY, 1953/.

Régebben a szulfanilsavat és az alfa-naftilamint külön adagolták. Az első - diazotáló - lépés után rövidebb ideig /kb. 5 percig/, majd az alfa-naftilamin hozzáadása után hosszabb ideig /20-30 percig/ hagyták /egyes előírások szerint sötétben/ állni a mintákat a maximális színintenzitás eléréséig. A reagenseket az oxidáló és redukáló anyagok: az aminok, ammóniumsók, a karbamid, valamint a Fe/II/- és Fe/III/-ionok jelenléte zavarja. Ezenkívül az alfa-naftilamint karcinogénnek tartják. Ezért a reagenst többféleképpen módosították /GRAU és MIRNA, 1957; WOOLLEY et al., 1960; LONTAI et al., 1967; A levegő NO₂-tartalma... Szabvány, 1977; VDOVINA és MEDVEDEVA, 1979; DUBINA et al., 1982; SZÜCS, 1984/.

Végül kialakult a jelenleg széles körben használt változat. A nitrit-ionok szulfanilamiddal reagálva diazónium-sót képeznek, s az ehhez adott N-/1-naftil/-etiléndiamin-dikloriddal /NNEED vagy NEDA/ alakul ki a bordó-vöröses színű azofesték, mely a fotometriás meghatározás alapját képezi. A reakció specifikus és igen gyorsan játszódik le. A reagens két komponense egy lépésben /egy reagensként/ adható. A keletkezett színes vegyület igen stabil, több órán át állandó. Ezenfelül a NNED kevésbé bizonyult karcinogénnek, mint az alfa-naftilamin /TERREY, 1966; AOAC Módszerkönyv, 1970; HENRIKSEN és SELMER-OLSEN, 1970; SAWICKI és SCARINGELLI, 1971; TECHNIKON-Auto-Analyzer módszerek, 1971; STANTON, 1974; DOMOKI és SOHÁR, 1976; HUFFMAN és BARBARICK, 1981; HAMANO et al., 1983; NOVOZAMSKY et al., 1983; RICE et al., 1984/.

Az irodalom összefoglalásakor elsősorban arra törekedtem, hogy a jelenleg szélesebb körben használt módszereket részletesebben ismertessem, a ritkábban használt eljárásokat sem hagyva azonban figyelmen kívül. Az alkalmazott analitika területén dolgozó szakembereknek a saját igényeiknek és lehetőségeiknek megfelelően kell a vizsgálandó anyagnak megfelelő módszert kiválasztaniuk és adaptálniuk.

Irodalom

- A levegő gázszennyezőinek vizsgálata. Nitrogén-oxidok meghatározása. MSZ 21456/4-77, 1977.
- A növényvizsgálatok felhasználása a szaktanácsadásban, 1981. A MÉM NAK és ÁGOK által 1981. máj. 26-27. rendezett értekezlet összefoglalója. MÉM NAK Kiadvány. Budapest.
- A.O.A.C. Official Methods of Analysis, 1970. Nitrate and nitrite nitrogen in animal feed. 11th Ed., 126-127. Washington.
- A TVC Tápanyagvizsgáló Laboratóriumok Módszerfüzete, 1978. MÉM NAK Kiadvány, Budapest.
- AWORH, O. C. et al., 1980. Effects of plant age and nitrogen fertilization on nitrate accumulation and post-harvest nitrite accumulation in fresh spinach. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 105. /1/ 18-20.
- BACA, Ph. and FREISER, H., 1977. Determination of trace levels of nitrates by an extraction-photometric method. Analyt. Chem. 49. 2249-2250.
- BAKER, J. M., REED, R. M. and TUCKER, B. B., 1972. The relationship between applied nitrogen and the concentration of nitrate-N in cotton petioles. Commun. Soil Sci. Pl. Anal. 3. /4/ 345-350.
- BAKER, A. S. and SMITH, R., 1969. Extracting solution for potentiometric determination of nitrate in plant tissue. J. Agr. Food Chem. 17. 1284-1287.

- BALKS, R. und REEKERS, I., 1960. Nitratbestimmung in Pflanzensubstanz mit 1,2,4-xilenol. *Iandw. Forsch.* 13. 134-136.
- BARKER, A. V., 1973. Nitrate determinations in soil, water, and plants. Univ. of Massachusetts, Amherst.
- BARKER, A. V. and RICHARD, J. V., 1964. Determination of ammonium, amide, amino, and nitrate nitrogen in plant extracts by a modified Kjeldahl method. *Anal. Chem.* 36. /2/ 439-441.
- BARNES, H., 1950. A modified 2,4-xyleneol method for nitrate estimation. *Analyst.* 75. 388-391.
- CATALDO, D. A. et al., 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.* 6. /1/ 71-80.
- CAWSE, P. A., 1967. The determination of nitrate in soil solutions by ultraviolet spectrophotometry. *Analyst.* 92. 311-315.
- DALAL, R. C., SAHRAWAT, K. L. and MYERS, R. J. K., 1984. Inclusion of nitrate and nitrite in the Kjeldahl nitrogen determination of soils and plant materials using sodium thiosulphate. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.* 15. /12/ 1453-1461.
- DOMOKI J. és SCHÁR J., 1976. Hazai zöldségfélék és bérbiételek nitrát és nitrit tartalmának vizsgálata. *Élelmiszervizsg. Közlem.* 22. 335-345.
- DUBINA, V. M., GUMEN'UK, G. D. i Vorosilova, N. M., 1982. Prizkorenij metod viznacsennja vmisztu nitrativ i nitritiv u kormah. *Visn. Sil'skogo-spod. Nauki.* /1/ 81-84.
- ERDEY L., 1953. Bevezetés a kémiai analízisbe. I. Nitrát-ionok reakciói. 201-203. Tankönyvkiadó. Budapest.
- FISHMAN, M. J., SKOUGSTAD, M. W. and SCARBRO, G. F., 1964. Diazotization method for nitrate and nitrite. *J. Amer. Water Works.* 56. 633-640.
- FRIES, J. und GETROST, H., 1975. Organische Reagenzien für die Spurenanalyse. Nitrat. 267-272. E. Merck, Darmstadt.
- Futtermittel. Prüfung von Futtermitteln. Bestimmung des Nitratgehaltes. NDK-Szabvány. TGL 21875, Blatt 34, Gruppe 942 210. 1972.
- GRAU, R. und MIRNA A., 1957. Über die Bestimmung von Nitrit, Nitrat und Kochsalz in Fleischwaren und Laken. *Z. anal. Chem.* 158. 182-187.
- HAMANO, T. et al., 1983. Application of nitrate reductase for the determination of nitrate in meat and fishery products. *Agric. Biol. Chem.* 47. /11/ 2427-2433.
- HEANES, D. L., 1975. Determination of nitrate in soil and water by an adaptation of an Orange I Method. *Analyst.* 100. 316-321.
- HEANES, D. L., 1982. Determination of nitrate-N in plants by an improved extraction procedure adapted for ultraviolet spectrophotometry. *Comm. Soil Sci. Pl. Anal.* 13. /10/ 803-818.
- HENRIKSEN, A., 1965. An automatic method for determining nitrate and nitrite in fresh and saline waters. *Analyst.* 90. 83-88.
- HENRIKSEN, A. and SELMER-OLSEN, A. R., 1970. Automatic methods for determining nitrate and nitrite in water and soil extracts. *Analyst.* 95. 514-518.
- HOLLER, A. C. and HUCH, R. V., 1949. Colorimetric determination of nitrates and nitric acid esters. *Anal. Chem.* 21. 1385-1388.
- HUFFMAN, S. A. and BARBARICK, K. A., 1981. Soil nitrate analysis by cadmium reduction. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.* 12. /1/ 79-89.
- Ivóvízvizsgálat. Nitrát- és nitrition meghatározás. MSZ. 448/12-82. 1982.
- JOHNSON, C. M. and ULRICH, A., 1950. Determination of nitrate in plant material. *Anal. Chem.* 22. 1526-1529.
- KALBASI, M. and TABATABAI, M. A., 1985. Simultaneous determination of nitrate, chloride, sulfate, and phosphate in plant materials by ion chromatography. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.* 16. /7/ 787-800.

- KAMPHAKE, L. J., HANNAH, S. A. and COHEN, J. M., 1967. Automated analysis for nitrate by hydrazine reduction. *Water Research*. Vol. 1. 205-216. Pergamon Press.
- KGST Egységes Vízvizsgáló Módszerek. Kémiai Módszerek, 1968. VITUKI, Budapest. 137-148.
- LEWIS, D. G., 1961. Determination of inorganic nitrogen in soil. *J. Sci. Food Agric.* 12. 735-742.
- LI, Sh. and SMITH, K. A., 1984. The rapid determination of nitrate at low concentrations in soil extracts: comparison of ion-selective electrode with continuous-flow analysis. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.* 15. /12/ 1437-1451.
- LITCHFIELD, M. H., 1967. The automated analysis of nitrite and nitrate in blood. *Analyst.* 92. 132-136.
- LONTAI I., CSEH E. és BÖSZÖRMÉNYI Z., 1967. Nitrát és halogénát ionok felvétele és felvételi kölcsönhatása. *Agrokémia és Talajtan.* 16. 97-110.
- LOWE, R. H. and HAMILTON, J. L., 1967. Rapid method for determination of nitrate in plant and soil extracts. *J. Agr. Food Chem.* 15. /2/ 359-361.
- MIDDLETON, K. R., 1959. The use of the Orange I method for determining soil nitrates and a comparison with the phenol-sulphonic acid method for certain soils of Northern Nigeria. *J. Sci. Food Agric.* 10. 218-219.
- MILES, D. L. and ESPEJO, C., 1977. Comparison between an ultraviolet spectrophotometric procedure and the 2,4-xylenol method for the determination of nitrate in groundwaters of low salinity. *Analyst.* 102. 104-109.
- MORRIS, M. P. and GONZÁLEZ-MÁS, A., 1958. Simple colorimetric method for the determination of nitrates in forage crops. *Agric. Food Chem.* 6. /6/ 456-457.
- MULLIN, J. B. and RILEY, J. P., 1955. The spectrophotometric determination of nitrate in natural waters, with particular reference to sea-water. *Anal. Chim. Acta.* 12. 464-480.
- NELSON, J. L., KURTZ, L. T. and BRAY, R. H., 1954. Rapid determination of nitrates and nitrites. *Anal. Chem.* 26. 1081-1082.
- NOVOZAMSKY, I. et al., 1983. Notes on determinations of nitrate in plant material. *Netherland J. Agric. Sci.* 31. 239-248.
- PAPASTYLIANOU, I., GRAHAM, R. D. and PUCKRIDGE, D. W., 1982. The diagnosis of nitrogen deficiency in wheat by means of a critical nitrate concentration. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.* 13 /6/ 473-485.
- PAPASTYLIANOU, I., GRAHAM, R. D. and PUCKRIDGE, D. W., 1984. Diagnosis of the nitrogen status of wheat at tillering and prognosis for maximal grain yield. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.* 15. /12/ 1423-1436.
- PAPASTYLIANOU, I. and PUCKRIDGE, D. W., 1981. Nitrogen nutrition of cereals in a short-term rotation. II. Stem nitrate as an indicator of nitrogen availability. *Aust. J. Agric. Res.* 32. 713-723.
- PAUL, J. L. and CARLSON, R. M., 1968. Nitrate determination in plant extracts by the nitrate electrode. *J. Agr. Food Chem.* 16. 766-768.
- PRASAD, M. and SPIERS, T. M., 1984. Evaluation of a rapid method for plant sap nitrate analysis. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.* 15. /6/ 673-679.
- RESCH, G. und GRÜNSCHLAGER, E., 1982. Die Ionenchromatographie - ein analytisches Verfahren zur Untersuchung von Wasser und Abwasser. *VGB Kraftswerktechnik.* 62. /2/ 127-132.
- RICE, C. W., SMITH, M. S. and CRITCHFIELD, J. M., 1984. Inorganic N analysis of soil extracts by automated and distillation procedures. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.* 15. /6/ 663-672.
- ROBARGE, W. P., EDWARDS, A. and JOHNSON, B., 1983. Water and waste water analysis for nitrate. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.*, 14. /12/ 1207-1215.
- ROWLAND, A. P., GRIMSHAW, H. M. and RIGABA, O. M. H., 1984. Control of soil solution interferences in an automated nitrate method. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.* 15. /4/ 337-351.

- SAWICKI, C. R. and SCARINGELLI, F. P., 1971. Colorimetric determination of nitrate after hydrazine reduction to nitrite. *Microchem. J.* 16. 657-672.
- SCHOUWENBURG, van J. Ch. and WALINGA, I., 1978. Methods of analysis of plant material. 3.12.1. Colorimetric determination of free nitrate. 3.12.2. Potentiometric determination of free nitrate. MSc. Course on Soil Sci. and Water Management, Agric. University, Wageningen.
- SØRENSEN, Ch., 1956. The xylenol method and determination of nitrate in beets. *Physiologia Plantarum.* 9. 304-320.
- STÄHLBERG S., 1984. Nitrát meghatározás növényi eredetű próbában /standard módszer/. /Írásbeli közlés/.
- STAINTON, M. P., 1974. Simple, efficient reduction column for use in the automated determination of nitrate in water. *Anal. Chem.* 46. 1616.
- SWANN, M. H. and ADAMS, M. L., 1956. Rapid colorimetric method for nitrates. *Anal. Chem.* 29. 1630.
- Szennyvizek vizsgálata. Nitrátion meghatározása. MSz. 260/11-71. 1971.
- SZMIRNOV, P. M. et al., 1981. Potenciometriccseszkoe opredelenie szoderzsaniya nitratov v szvezsih ovoscsah. *Izv. Timirjazevszkoj Szel'szkohoz. Akad.* 4. 181-184. Moszkva.
- SZÚCS M., 1984. Írásbeli közlés.
- TABOR, J. A., PENNINGTON, D. A. and WARRICK, A. W., 1984. Sampling variability of petiole nitrate in irrigated cotton. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.* 15. /5/ 573-585.
- TANAKA, A., NOSE, N. and IWASAKI, H., 1982. Spectrophotometric determination of nitrate in vegetable products using 2-sec-butylphenol. *Analyst.* 107. 190-194.
- Tartósított élelmiszerek nitrit- és nitráttartalmának meghatározása. MSz. 3615-80. 1980.
- TECHNICON-Auto-Analyzer Handbook, 1971. Nitrate and nitrite in water and waste water. TECHNICON Industrial Systems, Tarrytown, N. Y.
- TERMAN, G. L. and ALLEN, S. E., 1978. Crop yield - nitrate-N, total-N and total-K relationships; leafy vegetables. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.* 9. /9/ 813-825.
- TERREY, D. R., 1966. An automatic absorptometric method for the determination of nitrate. *Anal. Chim. Acta.* 34. 41-45.
- USHER, C. D. and TELLING, G. M., 1975. Analysis of nitrate and nitrite in foodstuffs: a critical review. *J. Sci. Food Agric.* 26. 1793-1805.
- VARNER, J. E. et al., 1953. Determination of ammonium, amide, nitrite and nitrate nitrogen in plant extracts. *Anal. Chem.* 25. /10/ 1528-1529.
- VDOVINA, T. A. i MEDVEDEVA, N. A., 1979. Metodika opredelenije nitritov i nitratov v ovoscsnoj i bahcevoj produkcii. *Agrohimiya.* 1. 123-128.
- WAGNER, R. und RUCK, W., 1981. Extraktionsverfahren zur Bestimmung der Nitrat-Ionen mit der p-Fluorphenol-Methode. *Z. Wasser, Abwasser Forsch.* 14. /3/ 99-100.
- WOOLLEY, J. T., HICKS, G. P. and HAGEMAN, R. H., 1960. Rapid determination of nitrate and nitrite in plant material. *Agric. Food. Chem.* 8. /6/ 481-482.

THAMM FRIGYESNÉ

MTA Talajtani és Agrokémiai
Kutató Intézet, Budapest

Érkezett: 1988. június 9.