

Los métodos cinéticos. Una alternativa atractiva para el análisis espectrofotométrico de nitritos en aguas a niveles de traza y ultratrazo

Máximo Galignan^{1}, Maribel Valero¹, Rosario Brunetto¹, Argenis Sánchez¹, Marcela Burguera¹, Jose Luis Burguera¹ y Victor Cerdà²*

¹ IVAIQUIM (Instituto Venezolano de Investigaciones Químicas), Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes (ULA), Mérida, Venezuela. * Apartado Postal 440, Mérida 5101-A, Mérida, Venezuela. ² Departamento de Química Analítica, Universidad de las Islas Baleares, 07071, Palma de Mallorca, España

Recibido: 21-11-02 . Aceptado: 26-09-03

Resumen

Los métodos catalítico cinéticos representan una de las alternativas más atractivas para la determinación espectrofotométrica de nitritos a niveles traza y ultratrazo. En los últimos años han aparecido en la literatura una serie de métodos espectrofotométricos para la determinación de nitritos en aguas, que se basan en el efecto catalítico cinético de este ión en la oxidación de diversas moléculas orgánicas, por parte del ión bromato en medio ácido. Estos procedimientos son simples y requieren de una instrumentación sencilla y accesible a muchos laboratorios. El principal objetivo del presente trabajo es hacer una revisión comparativa y crítica de los diversos desarrollos metodológicos propuestos, así como proponer algunas alternativas metodológicas que aún no han sido exploradas.

Palabras clave: Métodos cinéticos; nitrito.

The catalytic kinetic methods. One of the most attractive alternatives for the ultratrace spectrophotometric determination of nitrite in waters

Abstract

The catalytic kinetic methods are one of the most attractive methods for the ultra trace determination of nitrite. Its advantage is that only a spectrophotometer is required as the main instrumentation. A number of kinetic methods have been reported for nitrite determination. Most of these methods are based on the nitrite catalytic effect on bromate oxidation of organic compounds in acidic medium. The main aim of this work was to establish a critical and comparative evaluation of these experimental developments and in this way discuss about new and unexplored experimental approaches.

Key words: Nitrite; kinetic methods.

* Autor para la correspondencia. E-mail: maximo@ula.ve y aurelio@icnet.com.ve

Introducción

El nitrito es un intermediario activo en el ciclo del nitrógeno, que se produce por la oxidación incompleta del amonio o por la reducción de los nitratos. Las sales de nitrito se utilizan como preservadores en la industria de los alimentos y como inhibidor de corrosión en las aguas de diversos procesos industriales (1, 2). El nitrito es uno de los contaminantes comunes que se encuentran en la atmósfera y en las aguas naturales. A manera de ejemplo, el nitrito que se forma durante la biodegradación de los nitratos, del nitrógeno amoniacal y de la materia orgánica nitrogenada, representa un importante indicador de la polución fecal en las aguas naturales (3, 4).

La determinación de nitritos es de suma importancia debido a su impacto perjudicial en la salud humana. Su toxicidad se debe principalmente a su interacción con los pigmentos de la sangre, para producir metahemoglobinemia. La reacción de los nitritos con aminas secundarias y terciarias, así como con amidas produce compuestos N-nitroso, alguno de los cuales son conocidos por sus efectos cancerígenos, tetratogénicos y mutagénicos (3, 5). Por estas razones, la determinación de nitritos en matrices biológicas, medioambientales, agrícolas, geoquímicas y ecológicas adquiere una importancia significativa. Por ello, en la actualidad existe una necesidad creciente de nuevos desarrollos metodológicos simples y sensibles para la determinación de trazas y ultratrazas de nitritos en muestras naturales y artificiales.

Existen numerosos desarrollos metodológicos que utilizan técnicas como: quimioluminiscencia, voltametría, amperometría, polarografía, cromatografía iónica, fluorescencia molecular, etc., para la determinación de nitritos en una variedad de matrices; muchos de los cuales han sido considerados en algunos interesantes y completos *reviews* (6, 7). Todos estos métodos presentan ventajas y desventajas. Sin embargo,

muchos de ellos involucran tiempos de análisis largos y/o el uso de instrumentación costosa, por lo que no son adecuados -o no son accesibles- para llevar a cabo análisis rutinarios en muchos laboratorios.

En la actualidad, la gran mayoría de los métodos utilizados para la determinación de nitritos son espectrofotométricos (6-8), y se fundamentan en la reacción de Ilosvay-Griess (9). Esta reacción involucra la diazotización en medio ácido de una amina aromática primaria con el anión, para generar una sal de diazonio; seguida por una reacción de acoplamiento con una amina aromática o un fenol. En esta etapa se produce un compuesto "azo", que generalmente presenta una intensa absorción en el visible. Entre las principales desventajas que se atribuyen a estos métodos destacan: i) la obtención de límites de detección relativamente altos ($LD > 20 \mu\text{g L}^{-1}$), ii) el uso de reactivos tóxicos, iii) el tiempo de la reacción de acoplamiento suele ser alto y iv) están sujetos a serios efectos interferentes (3, 10). En lo concerniente a la sensibilidad, hay que destacar que existen desarrollos metodológicos recientes en los que se mejora en forma significativa la sensibilidad y por ende el límite de detección, incorporando al montaje experimental sistemas de concentración (11-13). Sin embargo, esta variante experimental conlleva a un aumento significativo en el tiempo de análisis.

En la búsqueda de sensibilidad, los métodos cinéticos catalíticos representan una de las alternativas más atractivas para la determinación de nitritos a niveles traza y ultratrazas (8, 14-16). En general estos métodos son muy simples y requieren de una instrumentación muy sencilla. Utsumi y colaboradores (17) desarrollaron un método espectrofotométrico basado en el efecto cinético del ion nitrito en la decoloración del complejo Fe (III)-tiocianato en HNO_3 diluido, en presencia de yoduros. El intervalo dinámico de trabajo fue de 0,0005 a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, pero no se reportan valores concernientes a la precisión del método. Koupparis y colabora-

dores (18) desarrollaron un método para la determinación de nitritos basado en su efecto cinético sobre la reacción de diazotización de la sulfanilamida y acoplamiento con el N-(1-naphtil)etilendiamino dicloruro. Sin embargo, el límite de detección reportado es poco atractivo ($0,0125 \mu\text{g mL}^{-1} \text{NO}_2^-$). Concepción Sánchez-Pedreño y colaboradores (19) desarrollaron un método cinético espectrofotométrico para la determinación de nitritos a niveles traza que se fundamenta en el efecto inhibitor que ejercen en la reacción entre el I_2 y el ácido etilendiaminotetracético, con un intervalo dinámico de trabajo de 3 a 100 ng mL^{-1} . B. Liang y colaboradores (20) desarrollaron un método cinético espectrofotométrico para la determinación de nitritos basado en el efecto catalítico de este ion en la reacción redox entre la clorpromazina y el peróxido de hidrógeno, con un intervalo dinámico de trabajo de $10-1.500 \text{ ng mL}^{-1} \text{NO}_2^-$, y un límite de detección de 3 ng mL^{-1} . Por su parte Jiang Zhi-Liang y colaboradores (21) reportaron un método para la determinación de nitritos basado en el fuerte efecto catalítico que presenta el anión en la oxidación del naranja de metilo por parte del bromato en medio de ácido sulfúrico diluido, con un intervalo dinámico de trabajo de 0,32 a 55 ng mL^{-1} , y un límite de detección de 1 ng mL^{-1} . El seguimiento de la reacción se realizó por voltametría de barrido lineal.

En los últimos años se han publicado una serie de métodos espectrofotométricos para la determinación de nitritos en aguas, que se basan en el efecto catalítico cinético de los nitritos en la oxidación de diversas moléculas por parte del ión bromato en medio ácido (2, 8). El principal objetivo del presente trabajo es hacer una revisión y una evaluación crítica de los diversos desarrollos metodológicos propuestos, así como discutir sobre algunas alternativas metodológicas que no han sido aún exploradas.

Fundamentos de los métodos cinéticos

El principio fundamental de estos métodos se basa en la reacción de oxidación de ciertas moléculas orgánicas por parte del bromato en medio ácido, la cual está catalizada por la presencia del ión nitrito en la solución (8). Evidentemente, la molécula orgánica en cuestión debe presentar absorción en la región del UV-visible (generalmente en el visible), mientras que la forma oxidada suele ser transparente en esa región espectral. Sin embargo, también se han reportado sistemas en donde el producto de la oxidación es el que presenta absorción en el visible (22). Entre las especies orgánicas que han sido empleadas se encuentran: piridina-2-aldehído-2-piridilhidrazona (1), ácido carmínico (2), prochlorperazina (22), azul cresil brillante (23), clorofosfonazo PN (24), azul de nilo (25), verde B de naftol (26, 27), tionina (28, 29), rojo de pyrogallol (3, 10), gallocianina (4), etc.

En estos procedimientos generalmente se observa que la depresión en la absorción de la especie orgánica, producto de la oxidación de la molécula, es proporcional a la concentración de nitritos y al tiempo de reacción. La concentración de la especie catalítica se puede determinar a través de diversos métodos entre los que destacan los métodos de: concentración constante, velocidad constante, velocidad inicial, y tiempo constante (14, 15, 16, 28, 30), donde el método de la velocidad inicial y especialmente el de tiempo constante son los más utilizados. El mayor inconveniente que presentan los métodos cinéticos, desde el punto de vista experimental, radica en que las reacciones suelen ser lentas, lo que se traduce en tiempos de análisis elevados. Sin embargo, se han desarrollado algunos procedimientos automatizados sobre la base de la oxidación del verde B de naftol (26, 27), la tionina (26),

el rojo de pirogallol (3) y la gallocianina (4), en los cuales se mejora considerablemente la frecuencia de análisis.

En los procedimientos manuales (*batch*), inicialmente se introducen alícuotas de las muestras (estándares) con un contenido conocido de nitritos en una serie de matraces calibrados. A continuación se añaden en forma secuencial volúmenes conocidos de las soluciones de los diversos reactivos involucrados en la reacción (cromóforo, ácido y por último bromato de potasio). Las soluciones se llevan a un volumen fijo y la reacción de oxidación se deja transcurrir durante un tiempo pre-establecido. En la modalidad de la velocidad inicial, se registra la absorbancia de cada solución como una función del tiempo. A partir de la representación gráfica: Absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción ($A_{\lambda_{\max}}$) contra tiempo se calcula la pendiente de la curva ($\Delta A/\Delta t$) en la zona inicial de la misma (la velocidad inicial). A partir de esa información se construye la curva de calibración del sistema graficando la velocidad de reacción contra la concentración de nitrito [NO_2^-]. Las velocidades obtenidas para las muestras se interpolan en la curva de calibración que se obtiene a partir de las soluciones estándar, y de esa forma se determina la concentración de nitritos en las muestras. Por otra parte, en el método de tiempo constante la reacción de oxidación se detiene a un tiempo pre-seleccionado, añadiendo en forma manual úrea sólida (entre 0,1 y 0,3 g) a todas las soluciones estándar y muestras (1, 2, 10, 28). Por lo general, los matraces calibrados se mantienen sumergidos en un baño de agua con una temperatura controlada cercana a los 30°C, con el objeto de acelerar la reacción. Finalmente, las soluciones se introducen en la celda de medida y se adquiere su espectro de absorción. El procedimiento se repite en forma análoga para el blanco, que corresponde a la solución con el cromóforo en ausencia de nitritos, y se evalúan las medidas de absorbancia para las muestras y estándares (A), así como para el

blanco (A_0). Por lo general se utiliza la absorbancia en la longitud de onda de máxima absorción. Sin embargo, es recomendable establecer una corrección en base a una línea de base adecuada, para corregir posibles desplazamientos del espectro de absorción con respecto al cero instrumental. La respuesta instrumental que se suele seguir es la relación logarítmica entre A_0 y A (1, 2, 10). Sin embargo, también se ha utilizado como medida instrumental la disminución de la absorbancia en el máximo de absorción ($\Delta A_{\lambda_{\max}} = A_0 - A$), como se ilustra en la Figura 1 (23). La calibración del sistema se hace mediante la representación gráfica de $\log(A_0/A)$ contra la concentración de nitrito [NO_2^-] (o $|A|$ contra [NO_2^-]).

En este tipo de procedimientos hay dos aspectos que se deben resaltar: i) después de la adición de la urea las soluciones se mantienen estables, y su absorción constante por varias horas, y ii) el conteo del tiempo de medida se inicia al finalizar la adición de la solución de bromato.

En condiciones óptimas de trabajo, la sensibilidad de estos métodos se relaciona con el tiempo de medida. A mayores tiempos mejor es la sensibilidad, pero la frecuencia de análisis disminuye. Por ello, la condición que se adopta en última instancia, es un compromiso que está determinado por la concentración del analito en la muestra de interés. Los mayores inconvenientes que presentan estos métodos son: i) los errores asociados a cualquier procedimiento manual, ii) son tediosos y iii) los tiempos de análisis suelen ser muy elevados.

Por otra parte, los sistemas que han sido automatizados se basan en acoplamientos de análisis por inyección en flujo con detección por espectroscopia de absorción molecular en el UV-visible (AIF-EAM-UVV). En las Figuras 2A y 2B se presentan montajes típicos AIF-EAM-UVV utilizados para la determinación de nitritos mediante métodos cinéticos. Estos sistemas consisten de una bomba peristáltica que propulsa en

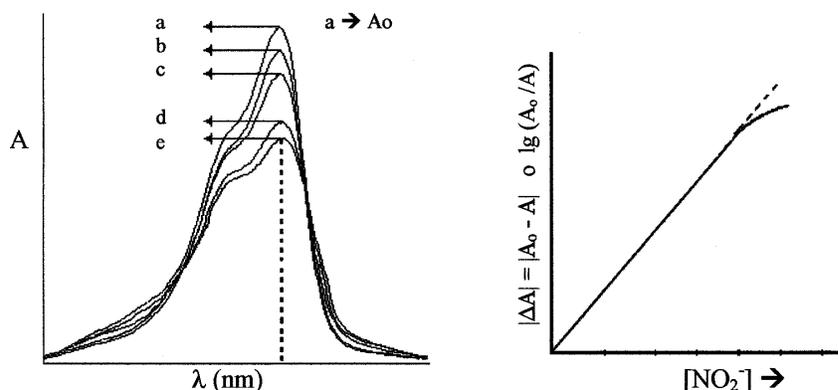


Figura 1. Efecto de la concentración de nitritos en el espectro de absorción del compuesto orgánico. (a) Espectro de referencia (A_0 corresponde a la señal de referencia)- Cromóforo en presencia de bromato, pero en ausencia de nitritos. (b-e) Estándares y nuestras (A corresponde a la absorbancia de la solución, en el máximo de absorción)-Cromóforo en presencia de bromato y en concentraciones crecientes de nitrito.

forma continua a las diversas soluciones de trabajo (solución portadora, ácido, bromato de potasio y el compuesto orgánico) a través de varios canales. La solución resultante, producto de la mezcla en línea de las soluciones mencionadas, fluye en forma continua a través de la celda de flujo (Figura 2). Entonces se registra en forma continua la absorbancia de la especie orgánica (en ausencia de nitrito), en su máximo de absorción, como una función del tiempo. De esta forma se establece a partir de la solución de referencia la línea de base (A_0), que en ocasiones puede ser el cero instrumental. La mayor ventaja que ofrece este diseño es que permite controlar durante todo el análisis el *background* del mismo. En una segunda instancia se introduce en el canal de la solución portadora, generalmente mediante una válvula de inyección, un volumen discreto de la muestra (estándar) que contiene al analito catalizador. Este se mezcla con las soluciones previamente descritas y se produce la reacción de oxidación, ya con la catálisis del ión nitrito. El segmento de la muestra dispersada en el sistema descrito, fluye a través de la celda de flujo en donde se registra la señal como función del tiempo. La señal de la muestra (A) se presenta como

una curva gaussiana negativa, en la que el valor absoluto de la absorbancia ($|A - A_0|$) es directamente proporcional a la concentración de nitrito, como se ilustra en la Figura 2C. En estos sistemas, el tiempo de medida se controla mediante el caudal de los diversos canales, así como por el diámetro interno y la longitud del serpentín de reacción colocado antes de la celda de flujo (Figura 2A). La calibración del sistema se hace mediante la representación gráfica $|A - A_0|$ contra $[NO_2]$. En general, en los montajes experimentales se incorpora un largo serpentín de reacción sumergido en un baño de agua cuya temperatura se controla y mantiene mediante el uso de un termóstato, con el fin de acelerar la reacción (Figura 3).

Comparación de los diversos desarrollos metodológicos

R. Montes y J.J. Laserna (1) realizaron un desarrollo metodológico manual basado en el efecto catalítico del ión nitrito en la oxidación de la piridina 2-aldehído 2-pyridilhidrazona (PAPH) por parte del bromato en medio ácido. La optimización del sistema la realizaron tanto en medio de $HClO_4$ como en HCl ; y utilizaron el método de las veloci-

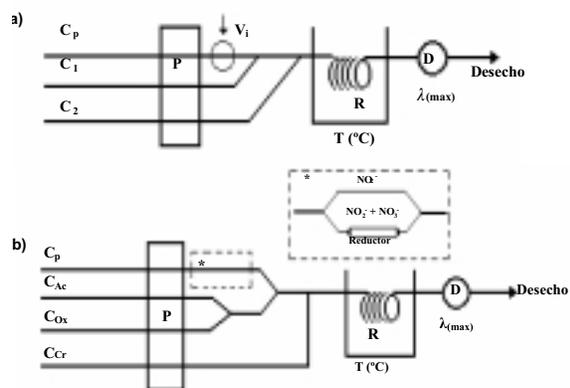


Figura 2. Diagramas esquemáticos de algunos sistemas de flujo con detección espectrofotométrica utilizados en métodos cinéticos catalíticos para la determinación de nitritos. P: bomba peristáltica, C_p : canal de la solución portadora, C_{Ac} : canal de la solución ácida, C_{Ox} : canal de la solución de bromato de potasio, C_{Cr} : canal de la solución del cromóforo. Los canales C_1 y C_2 pueden propulsar a la solución oxidante ($KBrO_3$) o la del cromóforo. El orden varía con el método desarrollado (ver texto y Tabla 1B), R: serpentín de reacción, B: termóstato, D: detector.

dades iniciales (28, 30). El procedimiento sugerido (con HCl) consiste en adicionar en aforados de 25 mL en los que previamente se han introducido alícuotas de muestra (estándares) con un contenido de nitritos de 1,2 a 100 μg : 3 mL de solución de Cr^{+3} (5 g L^{-1}), 1 mL de PAPH $1,5 \cdot 10^{-3}$ M, 1,0 mL de HCl 1,5 M y 1 mL de $KBrO_3$ 0,075 M (Tabla 1A). Las soluciones se llevan a un volumen fijo de 25 mL y la absorbancia de cada solución se registra como función del tiempo a 372 nm. Se calcula la velocidad de reacción para cada solución por la pendiente ($\Delta A / \Delta t$) de la representación gráfica $A_{372 \text{ nm}}$ contra tiempo en la zona inicial de la curva. A partir de esa información se hace la curva de calibración

del sistema graficando la velocidad de reacción contra la concentración de nitrito. Los estudios de recuperación (90-118 %) se realizaron con aguas minerales y superficiales fortalecidas con el anión. Los estudios de interferencias de 45 especies sobre una solución de $0,46 \mu g mL^{-1}$ indicaron que el método tolera la presencia de grandes cantidades de amonio y nitrato, pero está sujeto a las interferencias por parte de Pd^{+2} , Cu^{+2} , que forman complejos con el PAPH, y de especies electroactivas como Br^- , I^- , $S_2O_3^{2-}$, H_2O_2 , etc., las cuales son toleradas hasta una concentración de $1 \mu g mL^{-1}$. Sin embargo, la presencia del ión Cu^{+2} puede ser tolerada (hasta $100 \mu g mL^{-1}$) por adición de $1000 \mu g mL^{-1}$ EDTA a la muestra. Las características analíticas del método propuesto se presentan en la Tabla 2A. El método se utilizó para evaluar el contenido de nitritos en aguas provenientes de un río altamente contaminado, por estar en las cercanías de una industria de alimentos, encontrando valores comprendidos entre $0,268$ y $0,360 \mu g mL^{-1} NO_2^-$.

A.A. Mohammed y colaboradores (22) describen un procedimiento cinético manual en el que utilizan el sistema proclorperazina (PRP) / H_3PO_4 / $KBrO_3$ / NO_2^- (Tabla 1A). En este sistema es importante destacar que el producto de la oxidación del PRP es el que muestra absorción en el visible, con un máximo de absorción en 525 nm. Al igual que en el caso anterior, se utiliza el método de las velocidades iniciales. Las principales interferencias provienen del yoduro y el vanadio, que catalizan la reacción de oxidación del PRP. Los estudios de interferencias se llevaron a cabo con una solución de $30 \text{ ng mL}^{-1} NO_2^-$; y encuentran que especies iónicas como: I^- , IO_4^- , SCN^- , $S_2O_3^{2-}$, S^{2-} y V^{+5} , presentan un límite de tolerancia de $0,1 \mu g mL^{-1}$, mientras que especies como Co^{+2} , Cr^{+3} , Mn^{+2} , Mo^{+6} , W^{+6} , Zr^{+4} , Hg^{+2} , Ag^+ y Br^- se toleran hasta una concentración de $1 \mu g mL^{-1}$. Por su parte el Hg^{+2} y el EDTA son tolerados en concentraciones de 2 y $500 \mu g mL^{-1}$, respectivamente. Sobre la base de estos resultados, los autores recomiendan la adi-

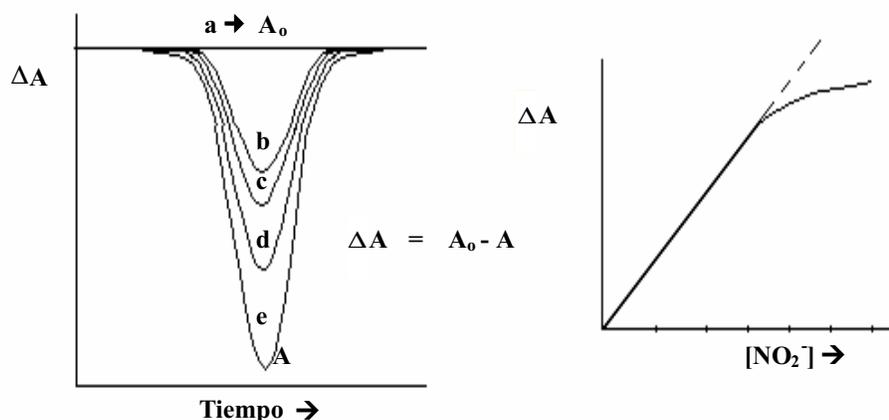
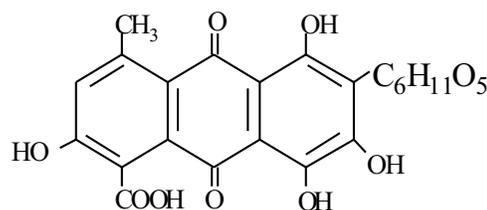


Figura 3. Curva de calibración típica en un sistema de análisis por inyección en flujo con detección espectrofotométrica (AIF-EAM-UVV). (a) Solución de referencia (A_0 corresponde a la señal de la solución de referencia), (b-e) Estándares / Muestras (A corresponde a la absorbancia, a la longitud de onda de trabajo, de soluciones con concentraciones variables y crecientes de NO_2^-).

ción de Hg^{+2} y EDTA a las muestras para suprimir las interferencias del I y del vanadio. La metodología propuesta, cuyas principales características analíticas se resumen en la Tabla 2A, se utilizó para analizar muestras de aguas del río Toku, Japón y aguas de lluvia de la misma ciudad, encontrando valores comprendidos entre 170-190 y 19,0-19,4 $\text{ng mL}^{-1} \text{NO}_2^-$, respectivamente.

J.L. Manzoori y colaboradores (2) desarrollaron un procedimiento manual basado en el sistema ácido carmínico / H_2SO_4 / BrO_3^- / NO_2^- , en el que utilizan el método de los tiempos constantes. En el proceso sugerido, tras la introducción de las alícuotas de muestra, ácido y cromóforo (Tabla 1A), las soluciones son diluidas hasta un volumen de 8 mL con agua, y los aforados se colocan en un baño de agua con una temperatura de $30,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ durante 10 min. En ese punto se adiciona la solución de BrO_3^- , que ha sido mantenida a la misma temperatura, y se lleva a aforo. La absorbancia de las soluciones se mide a los 3 min a 490 nm. La medida instrumental que utilizan es la relación logarítmica de A_0 / A .

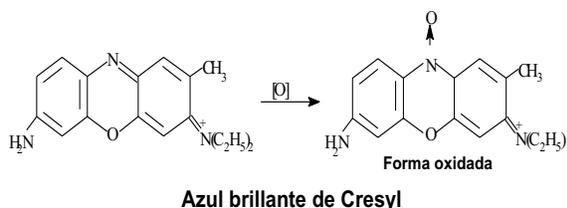


Estructura del ácido carmínico

Los investigadores realizan un exhaustivo estudio de interferencias utilizando como referencia una solución de 10 $\text{ng mL}^{-1} \text{NO}_2^-$, y concluyen que el método está bastante libre de interferencias, tolerando elevadas concentraciones de amonio y nitratos. La menor tolerancia la presentan especies como: IO_3^- , CrO_4^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Bi^{+3} y Fe^{+3} , las cuales pueden estar presentes hasta una concentración de 0,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Por su parte especies iónicas como CrO_4^{2-} , Hg^{+2} , Ba^{+2} , Mo^{+6} y W^{+6} presentan un límite de tolerancia de 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$. El método propuesto, cuyas figuras de mérito se indican en la Tabla 2A, fue utilizado para evaluar el contenido de nitritos en aguas del río Talkheroud (Irán) y aguas de lluvia de Irán, encontrando valores de 33,6 y 55,2 $\text{ng mL}^{-1} \text{NO}_2^-$, respectivamente.

A.A. Ensafi A.A. y B. Rezaii B (23) desarrollaron una metodología manual basada en el sistema Azul de cresyl brillante / H_2SO_4 / $KBrO_3$ / NO_2^- . El procedimiento sugerido (Tabla 1A) es muy similar al anterior, pero en este caso todas las soluciones de trabajo, así como la celda espectrofotométrica se mantienen a una temperatura de $30 \pm 1^\circ C$. La absorbancia de las soluciones se evaluó a 595 nm, el tiempo de medida se fijó en 3 min, y la respuesta instrumental utilizada fue $\left| \begin{array}{c} \\ 595 \text{ nm} \end{array} \right|$. En la Tabla 2A se presentan las figuras de mérito del método.

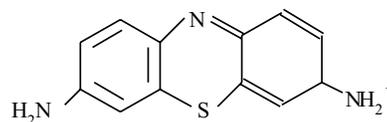
Los estudios de interferencias se realizaron con una solución de 100 ng mL NO_2^- . Los mayores interferentes fueron los iones V^{+3} , V^{+5} , Fe^{+3} , Ce^{+4} y Hg^{+2} , los cuales aceleran la reacción de oxidación. Por otra parte, iones como SCN^- y $S_2O_3^{2-}$ presentaron un límite de tolerancia masa Interferente / masa Nitrito = 25, el Hg^{+2} y el Br^- de 300, e iones como el Fe^{+2} , I^- y $S_2O_3^{2-}$ de 500. La tolerancia al Fe^{+3} se puede incrementar hasta $50 \mu g mL^{-1}$ por adición de KF 1 % (m/v) a las muestras. El método descrito se utilizó para la determinación de nitritos en aguas de río y de manantiales de Irán, así como en embutidos, encontrando valores de 0,035; 0,278 y 3,550-7,230 $\mu g mL^{-1} NO_2^-$, respectivamente. El método también se aplicó para a la determinación del contenido de nitritos en sales como KNO_3 y $NaNH_4$.



A. Ensafi y M. Keyvanfard (25) propusieron un método manual basado en el sistema químico Azul de Nilo/Ácido/ $KBrO_3$ /Nitrito, similar a los anteriores. En este caso se mide la disminución de la absorbancia del cromóforo a 595 nm. Los estudios de interferencias indican que el método propuesto está bastante libre de in-

terferencias por parte de los iones comúnmente presentes en las aguas. El método fue aplicado al análisis de nitritos en muestras de embutidos y aguas, con resultados satisfactorios.

M. Jiang y colaboradores (28) desarrollaron un método cinético manual basado en la oxidación de la tionina por parte del bromato en medio ácido (Tablas 1A y 2A).



Estructura de la Tionina

Los autores proponen para describir el proceso cinético la siguiente ecuación:

$V = -d[TN]/dt = k.[NO_2].[TN]^m.[BrO_3^-]^n$, en donde V es la velocidad del proceso, k es la velocidad de reacción, y $[NO_2]$, $[TN]$, y $[BrO_3^-]$ representan las concentraciones de nitrito, tionina y bromato, respectivamente. Bajo las condiciones de trabajo utilizadas ($[BrO_3^-] \gg [TN]$, $[NO_2]$) encuentran que la reacción es de primer orden ($m = 1$) y llegan a la siguiente expresión:

$\log(A_0/A) = (1/2) \cdot 2,303 k \cdot [NO_2] \cdot t$. Para la evaluación de la concentración de nitritos utilizan el método de los tiempos constantes, como se describe en la Tabla 1A. La absorbancia de las soluciones se evaluó a 602 nm, utilizando una catálisis térmica a $30^\circ C$ durante 5 min.

El método se aplicó a la determinación de NO_2^- en aguas superficiales, ríos y lagos del Japón, encontrando valores comprendidos entre 0,008 y 0,223 $\mu g mL^{-1} NO_2^-$. Adicionalmente analizaron dos muestras de embutidos con contenidos de 6,8 y 7,5 $\mu g mL^{-1} NO_2^-$. Las figuras de mérito del sistema descrito se presentan en la Tabla 2A.

Los autores describen un amplio estudio de interferencias de más de 40 especies aniónicas y catiónicas que suelen acompa-

ñar a los nitritos en las muestras de agua. La menor tolerancia se encuentra por parte de los sulfuros y yoduros, que muestran un efecto interferente positivo al estar presentes en una proporción molar mayor a 10 con relación al nitrito.

El grupo de Ubetrlingen de Perkin Elmer (29), desarrolló un sistema automatizado AIF-EAM-UVV basado en el sistema Tionina/ H_2SO_4 /Bromato/Nitrito con figuras de mérito atractivas para el análisis rutinario de nitritos a niveles de ultratrazas en aguas (Tablas 1B y 2B). El montaje experimental utilizado es similar al que se muestra en la Figura 2A. En este caso el ácido se incorpora directamente en la solución del cromóforo (C_p) y el montaje incorpora un largo serpentín de teflón adicional (400 cm de longitud y 0,8 mm de d.i.) en el punto de confluencia de los canales C_p y C_1 para la mezcla de la solución ácida de tionina y la muestra. La absorbancia se registra a 599 nm; y el sistema trabaja a temperatura ambiente. Los estudios de interferencias realizados sobre una solución de 30 ng mL^{-1} , mostraron que las especies menos toleradas fueron Cl^- , Co^{+3} , Cr^{+3} y Fe^{+3} , que presentan efectos interferentes a partir de concentraciones de 3,0; 0,1; 0,1 y $2 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

Zhang Zhi Qu y colaboradores (25) desarrollaron un procedimiento espectrofotométrico automatizado en el que utilizan el sistema Verde B de Naftol / H_3PO_4 / $KBrO_3$ / NO_2^- (ver Tablas 1B y 2B). El montaje experimental utilizado es similar al descrito en la Figura 2A. En este caso se utiliza una solución de sulfato de amonio 3 % (p/v) como solución portadora (C_p) y el medio ácido (H_3PO_4) se incorpora en la solución del oxidante (C_1 , Figura 2A). La absorbancia de la solución resultante se registra en forma continua a 722 nm y el serpentín de reacción (R) se mantiene sumergido en un baño de agua a 50°C . Los estudios de interferencia que se realizaron sobre una solución de $80 \text{ ng mL}^{-1} NO_2^-$ mostraron una gran tolerancia al nitrato, siendo los mayores interferentes los iones I^- , S^{2-} y V^{r5} , los cuales causan

una interferencia positiva a partir de una relación $[Interferente]/[Nitrito] = 1$. El efecto de los sulfuros e yoduros se explica por la probable destrucción del compuesto orgánico, mientras que la interferencia del vanadio se debe a su efecto catalítico sobre la reacción. El método se aplicó a la determinación de nitritos en aguas de ríos y lagos de la República China encontrando valores comprendidos entre 0 y $0,158 \mu\text{g mL}^{-1} NO_2^-$.

Estos mismos autores adaptaron el montaje descrito con anterioridad para la determinación secuencial de nitritos y nitratos (26). Para ello incorporan una válvula de 8 canales con dos bucles de inyección y un reductor de cadmio-zinc para la reducción heterogénea en línea del nitrato a nitrito. De esta forma, uno de los bucles se llena con la muestra original, mientras que el otro se llena con la muestra que ha pasado por la columna reductora. El procedimiento se basa en una doble inyección secuencial de los dos bucles de inyección, cuyas señales corresponden a la suma de nitritos + nitratos y nitritos, respectivamente. El método se utilizó para la determinación de ambos iones en aguas de ríos y lagos de la República de China, encontrando valores de $0 - 0,158 \mu\text{g mL}^{-1} NO_2^-$ y $0,116 - 0,956 \mu\text{g mL}^{-1} NO_3^-$.

Ali A. Ensafi y colaboradores (10) desarrollaron un método manual basado en el sistema Rojo de Pyrogallol / H_2SO_4 / $KBrO_3$ / NO_2^- para la determinación de nitritos. El espectro de absorción del rojo de pyrogallol (RPG) presenta un máximo de absorción a 467 nm, mientras que la forma oxidada presenta el máximo de absorción en 365 nm.

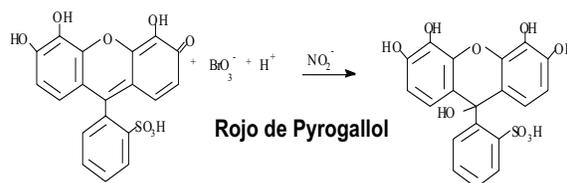


Tabla 1A. Condiciones óptimas de operación de diversos métodos cinéticos espectrofotométricos manuales desarrollados para la determinación de nitritos en aguas

Compuesto (Cromóforo)	Masa de NO ₂ ⁻ Añadida	Cromóforo (C) V _C / [C]	Ácido (Ac) V _{Ac} / [C]	Bromato (Ox) V _{Ox} / [Ox]	Aforado (mL)	λ (nm)	Tiempo de medida	T (°C)	Ref.
PAPH	1,1 – 23 (μg) →(1)	1,0 mL → (2) 1,5.10 ⁻³ M	6,5 mL → (3) HClO ₄ 1,5 M	1,0 mL → (4) 0,012 M	25	372	(*)	25	1
PAPH (a)	1,2 – 100 (μg) →(1)	1,0 mL → (3) 1,5.10 ⁻³ M	1,0 mL → (4) HCl 1,5 M	1,0 mL → (5) 0,075 M	25	372	(*)	25	1
Proclor-perazina (b)	5 – 350 (ng) →(1)	0, 2mL → (3) 8.0.10 ⁻⁴ M en H ₃ PO ₄ 5M	-	0,20 mL → (4) 0,250 M	5	525	(*)	25	19
Acido Carmínico	2,0 – 140 (ng) →(1)	1,0 mL → (3) 1,5.10 ⁻³ M	1,0 mL → (2) H ₂ SO ₄ 1,8 M	1,0 mL (4) 3,8.10 ⁻² M	10	490	13 min(**)	30	2
Azul brillante de Cresilo	0,05 – 10 (μg) →(1)	1,0 mL → (3) 1,44.10 ⁻⁴ M	0,8 mL → (2) H ₂ SO ₄ 0,370 M	1,0 mL → (4) 0,02 M	10	595	3 min(**)	30	20
Azul de Nilo	0,05 – 11 (μg) →(1)	1,0 mL → (3) -	1,0 mL → (2) -	1,0 mL → (4) -	10	595	4,5 min(**)	25	22
Tionina	3,30 – 550 (ng) →(1)	1,0 mL → (3) 8.0.10 ⁻⁴ M	0,8 mL → (2) H ₂ SO ₄ 2,0 M	0,8 mL → (4) 0,02 M	10	602	5 min (**)	30	25
Rojo de Pyrogallol	0,03 – 10 (μg) →(1)	2,0 mL → (3) 2,5.10 ⁻⁴ M	1,0 mL → (2) H ₂ SO ₄ 1,35 M	2,0 mL → (4) 7,5.10 ⁻³ M	10	467	3 min(**)	30	10

(a) La etapa (2) consiste en añadir 1 mL de solución de Cr⁺³ de 5 g l⁻¹. (b) La etapa (2) consiste en adicionar 0,1 mL de Hg⁺² 10⁻³M y 0,1 mL de EDTA 0,05 M. (*) Utilizan el método de las velocidades iniciales. (**) Utilizan el método de los tiempos constantes. (1), (2), (3), (4), (5): Representan el orden de adición de las diversas soluciones.

Tabla 1B. condiciones óptimas de operación de diversos métodos cinéticos espectrofotométricos automatizados desarrollados para la determinación de nitritos en aguas

Compuesto (Cromóforo)	Nitritos		Portador	Ácido	Oxidante	Cromóforo	Serpentín de reacción	λ (nm)	Ref.
	(Muestra / Estándar)	V_i (μ L)							
	Rango de trabajo		Composición Caudal	[Ácido] Caudal	[KBrO ₃] Caudal	[Cromóforo] Caudal	Longitud T (°C)		
2A* Tionina	NO ₂ ⁻ - N: 2,0 - 60 ng mL ⁻¹	200	2A: C _p Agua 1,4 mL min ⁻¹	-	2A: C ₂ 40 g l ⁻¹ 1,4 mL min ⁻¹	2A: C ₁ 7.10 ⁻⁴ M en H ₂ SO ₄ 0,08M 1,4 mL min ⁻¹	R**= 400 cm T= Ambiente	599	25
2A Verde B de Naftol	NO ₂ ⁻ : 2,0 - 200 ng mL ⁻¹	90	2A: C _p (NH ₄) ₂ SO ₄ 3 % (p/v) 1,8 mL min ⁻¹	-	2A: C ₁ 0,1 M + H ₃ PO ₄ 1M 1,8 mL min ⁻¹	2A: C ₂ 4,0.10 ⁻⁴ M 1,8 mL min ⁻¹	R*= 400 cm T = 50°C	722	22
2A Verde B de Naftol	NO ₂ ⁻ : 2,0 - 200 ng mL ⁻¹ NO ₃ ⁻ : 10 - 1.000 ng mL ⁻¹	90	2A: C _p (NH ₄) ₂ SO ₄ 3 % (p/v) 1,8 mL min ⁻¹	-	2A: C ₁ 0,1 M + H ₃ PO ₄ 1M 1,8 mL min ⁻¹	2A: C ₂ 4,0.10 ⁻⁴ M 1,8 mL min ⁻¹	R*= 400 cm T = 50°C	722	23
2B Rojo de Pyrogallol	NO ₂ ⁻ : 0,003-1,5 μ g mL ⁻¹ NO ₃ ⁻ : 0,03 -2,0 μ g mL ⁻¹	200	2B: C _p Agua 0,54 mL min ⁻¹	2B: C _{Ac} H ₂ SO ₄ 0,14 M 0,54 mL min ⁻¹	2B: C _{Ox} 1,40.10 ⁻² M 0,54 mL min ⁻¹	2B: C _{Cr} 4,75.10 ⁻⁵ M 0,54 mL min ⁻¹	R* = 180 cm T = 30°C	465	3
2B Gallocyanina	NO ₂ ⁻ : 0,010-2,5 μ g mL ⁻¹ NO ₃ ⁻ : 0,020-3,50 μ g mL ⁻¹	200	2B: C _p NH ₄ Cl 0,20 M 0,49 mL min ⁻¹	2B: C _{Ac} H ₂ SO ₄ 0,35 M 0,49 mL min ⁻¹	2B: C _{Ox} 0,060 M 0,49 mL min ⁻¹	2B: C _{Cr} 1,48.10 ⁻⁴ M 0,49 mL min ⁻¹	R*= 200 cm T = 23 °C	530	4
Cloro-Fosfon azo pN	NO ₂ ⁻ : 50 - 1000 ng mL ⁻¹	-	2B: C _p Agua 0,50 mL min ⁻¹	2B: C _{Ac} H ₂ SO ₄ 0,50 mL min ⁻¹	2B: C _{Ox} KBrO ₃ 0,50 mL min ⁻¹	2B: C _{Cr} 1 . 10 ⁻⁴ M 0,50 mL min ⁻¹	R*= 200 cm T = 25 °C	551	21

2A y 2B corresponden a los diagramas esquemáticos presentados en las Figuras 2A y 2B. 2A*: En este montaje existe un serpentín de reacción adicional de 400 cm de longitud y 0,8 mm de diámetro interno en el punto de confluencia de C_p y C₁ (Figura 2A). (R*): Serpentín de reacción de 400 cm de longitud de teflón (0,5 mm de diámetro interno). (R**): 0,5 mm de diámetro interno.

Tabla 2A. Comparación de las figuras de mérito de diversos métodos cinéticos espectrofotométricos manuales desarrollados para la determinación de nitritos

Compuesto (Cromóforo)	Curva de calibración (Ecuación), (r)	LD ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Intervalo Dinámico ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Precisión (DER) (n)	Sistema	Ref.
PAPH	$(\Delta A/\Delta t) = 0,052 + 1,22 \cdot [\text{NO}_2^-]$ in HCl ($[\text{NO}_2^-]$ en $\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,037 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,04 - 4 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	1,5 % (0,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$; n = 10)	Manual (*)	1
PAPH	$(\Delta A/\Delta t) = 0,053 + 3,63 \cdot [\text{NO}_2^-]$ in HClO_4 ($[\text{NO}_2^-]$ en $\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,021 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,04 - 0,92 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	2,2 % (0,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$; n = 10)	Manual (*)	1
Prochlor-Perazina	$(\Delta A/\Delta t) = 4,5 \cdot 10^{-3} + 6 \cdot 10^{-4} [\text{NO}_2^-]$ ($[\text{NO}_2^-]$ en ng mL^{-1}) (r = 0,9998)	0,8 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0 - 70 (ng mL^{-1})	2,1 % (10 ng mL^{-1} , n = 5) 0,9 % (40 ng mL^{-1} , n = 5)	Manual (*)	19
Acido Carmínico	$\lg(A_0/A) = 1,6 \cdot 10^{-3} + 0,011 [\text{NO}_2^-]$ ($[\text{NO}_2^-]$ en ng mL^{-1})	0,04 (ng/mL)	0,2 - 14 (ng mL^{-1})	1,7 % (6 ng mL^{-1} ; n = 6)	Manual (**)	2
Azul brillante de cresilo	$\Delta A = 4,26 \cdot 10^{-3} + 1,132 [\text{NO}_2^-]$ ($[\text{NO}_2^-]$ en $\mu\text{g mL}^{-1}$) (r = 0,9998)	0,1 (ng mL^{-1})	0,5 - 1.000 (ng mL^{-1})	1,1 % (10 ng mL^{-1} , n = 10) 0,8 % (500 ng mL^{-1} , n = 10)	Manual (**)	20
Azul de Nilo	$\Delta A = a_0 + k[\text{NO}_2^-]$ -	1 ng mL^{-1}	5 - 1100 (ng mL^{-1})	1 % (20 ng mL^{-1} , n = 10)	Manual (**)	22
Tionina	$\lg(A_0/A) = 0,016 + 4,16 \cdot 10^5 [\text{NO}_2^-]$ ($[\text{NO}_2^-]$ en mol L^{-1}) (r = 0,9984)	0,9 (ng mL^{-1})	0,32 - 55 (ng mL^{-1})	2,6 % (46 ng mL^{-1} , n = 6)	Manual (**)	25
Rojo de Pyrogallol	$\lg(A_0/A) = -4,1 \cdot 10^{-3} + 0,934 [\text{NO}_2^-]$ ($[\text{NO}_2^-]$ en $\mu\text{g mL}^{-1}$) (r = 0,9993)	0,001 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,003-1,0 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	1,8 % (0,01 $\mu\text{g mL}^{-1}$; n = 8) 1,2 % (0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$; n = 8)	Manual (**)	10

(*)Método de las velocidades iniciales. (**) Método de los tiempos constantes

Tabla 2B. Comparación de las figuras de mérito de diversos métodos cinéticos espectrofotométricos en sistemas de flujo desarrollados para la determinación de nitritos

Compuesto (Cromóforo)	Curva de calibración (Ecuación), (r)	LD *	Intervalo Dinámico	Precisión (DER)	Sistema	Frecuencia	Ref.
Tionina	$\Delta A = -0,0040 - 0,01530 [\text{NO}_2^-]$ ($[\text{NO}_2^-]$ en ng mL^{-1}) (r = 9,9916)	1,0 (ng mL^{-1})	2 - 60 (ng mL^{-1})	1,62 % (20 ng mL^{-1} , n = 5) 1,01 % (30 ng mL^{-1} , n=5)	AIF-	50 h^{-1}	26
Verde B de Naftol	$\Delta A = 0,0014 + 3,27 \cdot 10^{-3} [\text{NO}_2^-]$ ($[\text{NO}_2^-]$ en ng mL^{-1}) (r = 0,9992)	0,5 (ng mL^{-1})	2 - 200 (ng mL^{-1})	1,8 % (80 ng mL^{-1} , n = 6)	AIF-	50 h^{-1}	22
Verde B de Naftol	$\Delta A = 0,0014 + 3,27 \cdot 10^{-3} [\text{NO}_2^-]$ ($[\text{NO}_2^-]$ en ng mL^{-1}) (r = 0,9992) (A) = $-0,0093 + 6,79 \cdot 10^{-4} [\text{NO}_3^-]$ ($[\text{NO}_3^-]$ en ng mL^{-1}) (r = 0,9990)	0,5 (ng mL^{-1}) 2,5 (ng mL^{-1})	2 - 200 (ng mL^{-1}) 10 - 2000 (ng mL^{-1})	1,8 % (80 ng mL^{-1} , n = 6) 1,6 % (500 ng mL^{-1} , n = 6)	AIF-	30 h^{-1}	23
Rojo de Pyrogallol	$\Delta A = a_0 + k [\text{NO}_2^-]$ No se reportan ecuaciones $\Delta A = a_0 + k [\text{NO}_3^-]$ No se reportan ecuaciones	0,001 ($\mu\text{g mL}^{-1}$) 0,010 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,003-1,5 ($\mu\text{g mL}^{-1}$) 0,03-2,0 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	1,6 % (0,01 $\mu\text{g mL}^{-1}$, n = 10) 1,2 % (0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$, n = 10) 1,6 % (0,01 $\mu\text{g mL}^{-1}$, n = 10) 1,2 % (0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$, n = 10)	AIF-	20 \pm 3 h^{-1}	3
Gallocyanina	$\Delta A = a_0 + k[\text{NO}_2^-]$ No se reportan ecuaciones $\Delta A = a_0 + k[\text{NO}_3^-]$ No se reportan ecuaciones	0,001 ($\mu\text{g mL}^{-1}$) 0,002 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,010-2,5 ($\mu\text{g mL}^{-1}$) 0,020-3,5 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	1,7 % (0,01 $\mu\text{g mL}^{-1}$, n = 10) 1,2 % (0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$, n = 10) 1,8 % (0,02 $\mu\text{g mL}^{-1}$, n = 10) 1,3 % (0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$, n = 10)	AIF-	20 \pm 3 h^{-1}	4
Cloro fosfonazo-PN	$\Delta A = a_0 + [\text{NO}_2^-]$ No se reportan ecuaciones	0,018 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,05 - 1,0 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	-	AIF-	83	21

* LD: Límite de detección (σ)

El procedimiento sugerido, así como las figuras de mérito del método propuesto se presentan en las Tablas 1A y 2A. La absorbancia de las soluciones se evaluó a 467 nm, el tiempo de medida se mantuvo constante en 3 min, y la temperatura del serpentín de reacción en 30°C. Los estudios de interferencias indican que especies como: V(V), V(III), Ce(IV), As(III) e IO_4^- afectan a la señal del analito a partir de una proporción $\text{Interferente}/[\text{Analito}] > 5$, mientras que especies iónicas como Mo^{+6} , Bi^{+3} , Ce^{+3} , Ag^+ , Cr^{+3} , SCN^- , I^- , Br^- , S^{2-} , Hg^{+2} lo hacen a partir de una relación de 30. Por otra parte, iones como Fe^{+3} , Cl^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ no interfieren en una relación 1000/1. Es importante resaltar que el nitrato no afecta a la señal del analito incluso en proporciones tan altas como 10^6 , lo que indica que el método puede ser utilizado para la determinación de trazas de nitritos en nitratos. El método se utilizó para la evaluación del contenido de nitritos en aguas de ríos, lagos, aguas superficiales y de desecho de Irán, encontrando valores de 0,020; 0,110; 0,035 y 0,250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

A. Kazemzadeh y A. Ensafi (3) desarrollaron un procedimiento automatizado para la determinación secuencial de nitritos y nitratos basados en el sistema químico descrito anteriormente. El montaje experimental que utilizan es similar al descrito en la Figura 2B. La muestra se inyecta en el canal del portador y se divide en dos fracciones. La primera sigue la trayectoria tradicional para la determinación de nitritos, mientras que la segunda fracción atraviesa dos columnas de Cadmio y de cobre respectivamente, antes de mezclarse con las soluciones de cromóforo, ácido y oxidante. De esta forma, en esa fracción de la muestra el nitrato se reduce en forma cuantitativa a nitrito, lo que permite la evaluación de los nitritos + nitratos presentes en la muestra. La concentración de nitratos se determina sobre la base de la diferencia de ambas señales. La señal analítica que se sigue es la absorbancia a 465 nm, que se relaciona linealmente con la concen-

tración de nitritos. En el procedimiento sugerido todas las soluciones de trabajo se mantienen a $30,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Los estudios de interferencias realizados sobre una solución de 50 ng mL^{-1} NO_2^- , mostraron que especies como el Fe^{+3} y el Bi^{+3} , son toleradas hasta una relación masa $\text{(Interferente)} / \text{masa (Nitrito)}$ de 0,5; mientras que especies como SCN^- , Br^- , I^- , Cr^{+4} , Ag^+ , Hg^{+2} , Hg^+ , IO_4^- , As^{+3} , Fe^{+2} , VO_3^- presentan efectos interferentes a partir de una relación de 0,2. El método se utilizó para la determinación de nitritos y nitratos en muestras alimenticias previamente digeridas de embutidos, salami, harinas, y quesos Tabriz y Gorgan. Los valores encontrados fueron $0,152 \pm 0,004$; $0,092 \pm 0,003$; $0,250 \pm 0,004$; $0,030 \pm 0,002$; $0,020 \pm 0,003$ $\mu\text{g g}^{-1}$ NO_2^- y $0,070 \pm 0,003$; $0,048 \pm 0,004$; $< \text{LD}$; $1,750 \pm 0,004$; $2,160 \pm 0,003$ $\mu\text{g g}^{-1}$ NO_3^- , respectivamente. También se analizaron muestras de aguas superficiales y aguas de mar, encontrando valores que oscilan entre $0,03 - 0,04$ $\mu\text{g mL}^{-1}$ NO_2^- y $1,05 - 1,54$ $\mu\text{g mL}^{-1}$ NO_3^- para el primer grupo; mientras que en las aguas de mar los valores fueron de $0,04 - 0,050$ $\mu\text{g mL}^{-1}$ NO_2^- y $0,20 - 0,50$ $\mu\text{g mL}^{-1}$ NO_3^- .

Estos mismos autores desarrollaron un procedimiento automatizado para la determinación secuencial de nitratos y nitritos utilizando el sistema de Gallocyanina / $\text{H}_2\text{SO}_4 / \text{KBrO}_3 / \text{NO}_2^-$ (4). El montaje utilizado es análogo al descrito con anterioridad (Figura 2B). En este sistema, se sigue el comportamiento de la absorbancia a 530 nm y se trabaja a una temperatura de 23°C (Tablas 1B y 2B). El método propuesto se aplicó a la determinación de nitritos y nitratos en aguas superficiales, aguas de mar y productos alimenticios previamente digeridos. Las aguas superficiales presentaron contenidos de $0,010 - 0,030$ $\mu\text{g mL}^{-1}$ NO_2^- y $0,840 - 1,710$ $\mu\text{g mL}^{-1}$ NO_3^- , mientras que en las aguas marinas el contenido de nitritos y nitratos osciló entre $0 - 0,080$ $\mu\text{g mL}^{-1}$ y $0,10 - 0,80$ $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Por otra parte, en las muestras alimenticias analizadas (embutidos de carne, *calbus marta*, harina y quesos Trabiz y Gorgan) el contenido de ni-

tritos y nitratos encontrado fue de: 0,030; 0,060; 0,470; 0,030; 0,040 $\mu\text{g g}^{-1} \text{NO}_2^-$ y $<\text{LD}$; $<\text{LD}$; 1,670; 2,200; 3,180 $\mu\text{g g}^{-1} \text{NO}_3^-$, respectivamente. Los estudios de interferencias indicaron que especies como: Ag^+ , SO_3^{2-} , Br^- e I^- presentan un efecto interferente sobre una solución de $50 \text{ ng mL}^{-1} \text{NO}_2^-$, cuando están presentes en una proporción masa Interferente / masa Nitrito 1. Por otra parte especies como el Fe^{+2} y Fe^{+3} interfieren a partir de una proporción de 5.

Xingguo Chen y colaboradores (24) desarrollaron un sistema de análisis por inyección en flujo con detección espectrofotométrica similar a los descritos con anterioridad basado en el sistema químico Clorofosfazono-pN/ $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{KBrO}_3/\text{NO}_2^-$, siguiendo la disminución de la absorbancia del cromóforo a 551 nm. El método propuesto fue aplicado a la determinación de nitritos en muestras de aguas y suelos con resultados satisfactorios.

Evaluación crítica de los métodos cinéticos

Los métodos cinéticos representan una alternativa experimental, simple y válida, para la determinación espectrofotométrica de nitritos a niveles de ultratrazas en aguas. La instrumentación requerida, así como los reactivos necesarios para su implementación, son de fácil acceso para muchos laboratorios. En casi todos estos desarrollos se ha impuesto el uso de la modalidad de tiempo constante, por su simplicidad.

En los desarrollos manuales, el mayor inconveniente radica en que los tiempos de análisis son muy elevados, por lo que la frecuencia de análisis suele ser pequeña. Por otra parte, los procedimientos suelen ser tediosos, particularmente por el requisito de tener que detener a un tiempo muy controlado la reacción, por adición a la solución de urea sólida. Por otra parte, los desarrollos automatizados basados en acoplamiento de AIF con detección espectrofotométrica han solventado estos inconvenientes. En estos métodos, el control de los diversos parámetros asociados

al sistema es riguroso, lo que evita los problemas y errores asociados a los procedimientos manuales, mejora la precisión en las medidas instrumentales y aumenta de forma importante la frecuencia de análisis.

Las características analíticas de estos procedimientos son adecuadas para el análisis rutinario de nitritos en aguas, e incluso muchos de ellos están diseñados para la determinación secuencial de nitritos y nitratos. En lo referente a la sensibilidad y al límite de detección, estos desarrollos metodológicos tienen prestaciones superiores a aquellos que se fundamentan en la reacción de Griess. La sensibilidad de los métodos cinéticos es elevada, siendo en muchos casos el límite de detección real inferior a 1 ng mL^{-1} , lo que permite el análisis a niveles de ultratrazas. Adicionalmente el control de algunos parámetros del sistema como son: el tiempo de residencia en el serpentín de reacción, la temperatura de operación y el volumen de inyección, permitiría establecer un conjunto de curvas de calibración con diversos intervalos dinámicos de trabajo. Esto propiciaría una novedosa versatilidad al método, para adecuarlo a distintos tipos de muestras.

En lo referente a las interferencias, los estudios realizados por los diversos investigadores, indican que las mayores interferencias surgen de especies electroactivas como el $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, S^{2-} , I^- , Br^- , etc. Este comportamiento es lógico, ya que pueden intervenir en el sistema redox. Sin embargo, estas interferencias no son más significativas que las reportadas para la reacción de Griess.

Los diseños de acoplamiento AIF-EAM-UVV que han sido desarrollados, se limitan al uso de espectrofotómetros dispersivos, en los cuales se trabaja bajo la modalidad de "time drive". En este caso tan solo es posible la observación del comportamiento de la absorbancia a una longitud de onda fija. Estos diseños establecen un buen control sobre el *background* del sistema a la longitud de onda de trabajo, pero están estrictamente limitados en lo referente a la medi-

da instrumental. La modificación del montaje instrumental para permitir la adquisición del espectro de absorción, ya sea en continuo, en la modalidad de "flujo parado" o por incorporación de un detector de arreglo de diodos; ampliaría las posibilidades en ese sentido. Por otra parte el diseño de desarrollos metodológicos de acoplamientos en sistemas de análisis por inyección secuencial (SIA) utilizando detectores de tipo dispersivos o de arreglo de diodos es, en estos momentos, un campo inexplorado.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de los Andes (CDCHT-ULA) por el soporte económico brindado (Proyecto C-945) y a la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECD), por el apoyo financiero a través del programa de Cooperación Internacional.

Referencias Bibliográficas

- MONTES R., LASERNA J.J. *Talanta* 34: 1021-1026, 1987.
- MANZOORI J.L., MOHAMMAD H. S., HAJI-SHABANI A.M. *Talanta* 46: 1379-1386, 1998.
- KAZEMZADEH A., ENSAFI ALI A. *Microchem J* 69: 159-166, 2001.
- ENSAFI ALI A., KAZEMZADEH A. *Anal Chim Acta* 382: 1999,15-21, 1999.
- TSEZOU A., KITSISOU-TZELI S., GALLA A., GOURGIOTIS D., PAPAGEORGIOU J., MITROU S., MOLIBDAS P., SINANIOTIS C. *Archives of environmental health* 51: 458-461, 1996.
- FOX J. B. *CRC Crit Rev Anal Chem* 15: 283-313, 1985.
- MATTHEW J., MOORCROFT J.D., COMPTON R.G. *Talanta* 54: 785-803, 2001.
- GALLIGNANI M., VALERO M., SÁNCHEZ A. BRUNETTO R., BURGUERA J.L., BURGUERA M. *Revista de la Sociedad Venezolana de Química* 24(1): 3-15, 2001.
- FOX J. B. Jr. *Anal Chem* 51: 1493-1502, 1979.
- ENSAFI ALI A., SAMIMIFAR M. *Talanta* 40: 1375-1378, 1993.
- MIRÓ M., CLADERA A., ESTELA J.M., CERDÁ V. *Analyst* 125: 943-948, 2000.
- XUEXIN GU, TIANZE ZHOU, DAYONG QI. *Talanta* 43: 169-175, 1996.
- HORITA K., WANG G., SATAKE S. *Anal Chim Acta* 350: 295-303, 1977.
- MOTTOLA H.A. "Kinetics Aspects in Analytical Chemistry" Wiley, New York (USA), pp. 30-50, 1988.
- PEREZ-BENDITO D, SIVA M. "Kinetic Methods in Analytical Chemistry" Ellis Horwood, Chichester, England (United Kingdom), pp. 50-81, 1988.
- MARK H.B., RECHNITZ G.A. "Kinetics Analytical Chemistry" Wiley, New York (USA), pp. 15-31, 1968.
- UTSUMI S., OKUTANI T., SAKURAGAWA A., KENMOTSU A. *Bull Chem Soc Japan* 51: 3496-3499, 1978.
- KOUPPARIS M.A., WALCZAK K.M., MALMSTADT H.V. *Analyst* 107: 1309-1315, 1982.
- CONCEPCIÓN SANCHEZ P., TERESA SIERRA M., ISABEL SIERRA M., SANZ A. *Analyst* 112: 837-840, 1987.
- LIANG B., IWATSUKI M., FUKASAWA T. *Analyst* 119: 2113-2117, 1994.
- JIANG ZHI-LIANG, QIN HAI-CUO, WU DA-QIANG *Talanta* 39: 1239-1244, 1992.
- MOHHAMED A.A., EL-SHAHAT M.F., FUKASAWA T., IWATSUKI M. *Analyst* 121: 89-92, 1996.
- ENSAFI ALI A., REZAI B. *Microchem J* 50: 169-177, 1994.
- XINGGUO C., KETAI W., ZHIDE H., ZHENG FENG Z. *Anal Lett* 29: 2015-2023, 1996.
- ENSAFI ALI A., KEYVANFARD M *Anal Lett* 27: 169-182, 1994.

-
26. ZHANG ZHI-QI, GAO LOU-JUN, ZHAN HAN-YING. *Talanta* 47: 497-501, 1998.
 27. ZHANG ZHI-QI, GAO LOU-JUN, ZHAN HAN-YING. *Anal Chim Acta* 370: 59-63, 1998.
 28. MIAN JIANG, FANG JIANG, JIN DUAN, XUEYUAN TANG AND ZAOFAN ZHAO. *Anal Chim Acta* 234: 403-407, 1990.
 29. BETTINA SCHWEIZER, SHIHUA FAN, HANSWILLY MULLER. **Techniques for Flow Injection Analysis in UV/Vis Spectroscopy**. Perkin Elmer Corporation. Vol II, pp 152-156, 1993.
 30. PARDUE H. L. *Anal Chim Acta* 216: 69-107, 1989.