

ANALIZA METODELOR DE DETERMINARE A NITRAȚILOR ȘI NITRIȚILOR

ANALYSIS OF METHODS FOR THE DETERMINATION OF NITRATES AND NITRITES

Iurie SUBOTIN

Universitatea Tehnică a Moldovei
E-mail: iurie.subotin@ftmia.utm.md

Artur MACARI

Universitatea Tehnică a Moldovei
E-mail: artur.macari@tpa.utm.md

Oxana RADU

Universitatea Tehnică a Moldovei
E-mail: oxana.radu@sa.utm.md

Rezumat. În articol sunt analizate diferite metode de determinare a nitraților și nitriților. Printre metodele cunoscute în special au fost analizate metodele spectrofotometrice – metoda lui Griess, metoda bazată pe reacția de nitrozare, metoda chemiluminiscente, metoda electrochimică, metoda cromatografică, metoda electroforezei capilare, metoda spectrofluorimetrică. Se propun principiile de detectare și parametrii analitici, cum ar fi matricea, limitele de detecție, intervalul de detecție pentru fiecare metodă, evaluând avantajele și dezavantajele tehnicilor menționate. Se accentuează atractivitatea metodelor spectrofluorimetrice în comparație cu restul metodelor propuse datorită facilității lor, disponibilității, sensibilității ridicate, selectivității, limitei mici de detectare și costurilor reduse.

Cuvinte cheie: limita de detecție, metode spectrofotometrice și electrochimice, nitrați, nitriți.

Abstract. The article analyzes different methods for determining nitrates and nitrites. Among the known methods in particular were analyzed the spectrophotometric methods - Griess's method, the method based on the nitrosation reaction, the chemiluminescent method, the electrochemical method, the chromatographic method, the capillary electrophoresis method, the spectrofluorimetric method. The detection principles and analytical parameters, such as the matrix, the limit of detection, the detection range of each method, were proposed, evaluating the advantages and disadvantages of the mentioned techniques. The attractiveness of spectrofluorimetric methods was accentuated compared to the rest of the proposed methods due to their facility, availability, high sensitivity, selectivity, low detection limit, and low costs.

Keywords: nitrates, nitrites, spectrophotometric and electrochemical methods, the limit of detection.

The attractiveness of spectrofluorimetric methods was accentuated compared to the rest of the proposed methods due to their facility, availability, high sensitivity, selectivity, low detection limit and low costs.

Introducere

Nitrații și nitriții sunt prezenți în mediu și în produse alimentare. Aceste săruri sunt utilizate drept aditivi în alimente deja o perioadă mare de timp. Funcția lor principală constă în suprimarea propagării microorganismelor cu intoxicații alimentare, în special *Clostridium botulinum* [51]. De asemenea, pot îmbunătăți culorile și aromele produselor din carne. Odată cu dezvoltarea agriculturii, utilizarea necorespunzătoare a îngrășămintelor minerale duce la o acumulare excesivă de nitriți și nitrați în legume și fructe. Din acest motiv, nitriții și nitrații trebuie folosiți cu precauție - nitritul poate interfera cu sistemul de transport al oxigenului în organism, și ca urmare modifica conversia ireversibilă a hemoglobinei în methemoglobină în fluxul sanguin [31, 8]. Acest pericol este deosebit de grav pentru gravide și sugari [19, 28]. Nitritul poate reacționa, de asemenea, cu amine secundare și amide în stomac cu formarea N-nitrosaminelor cancerigene [50, 21]. Nitratul este, de asemenea, recunoscut ca periculos, deoarece poate fi ușor redus la nitrit *in-vivo*. Datorită acestor efecte toxice, multe țări au pus restricții severe asupra cantității de utilizare a acestora în produsele alimentare procesate.

Metode de detectare

Cantitatea excesivă de nitriți și nitrați din alimente și apa potabilă conduce la o preocupare majoră pentru siguranța alimentelor, cea ce impune necesitatea unor metode rapide și precise pentru determinarea nitriților și nitraților. În ultima perioadă au fost raportate diferite metode de detectare și determinare a nitraților și nitriților, inclusiv metoda spectrofotometrică [7, 39, 42, 12], chemiluminescentă [60, 61, 16, 53], electrochimică [8, 29], cromatografică [4, 22, 17], electroforeză capilară [54, 38, 58], metode spectrofluorimetrice [17, 34, 61] și metode electrochemiluminescente [36].

1. Metode spectrofotometrice

Metodele spectrofotometrice sunt cele mai utilizate metode de determinare a nitriților și nitraților datorită simplității și prețului scăzut. Aceste metode se bazează pe reacția de diazotare sau de nitrozare a nitritului cu unii reagenți, absorbanta fluxului luminos a produsului obținut după reacție fiind proporțională cu concentrația nitritului. Metodele spectrofotometrice utilizate pentru determinarea nitriților și nitraților pot fi clasificate în reacția Griess [2], metoda spectrofotometrică bazată pe nitrozare [2] și metode spectrofotometrice catalitice [45, 4].

1.1. Metoda Griess

Cea mai frecvent utilizată metodă spectrofotometrică de determinare a nitriților este metoda cu utilizarea reacției Griess care implică un proces de diazo-cuplare. Principiul acestei metode constă în reacția nitritului cu acidul sulfanilic cu formarea cationului de diazoniu care ulterior se cuplează cu 1-naftilamină (amină aromatică) și formarea unui colorant azo-solubil în apă ($\lambda_{\max} \approx 540$ nm), colorat în roșu-violet.

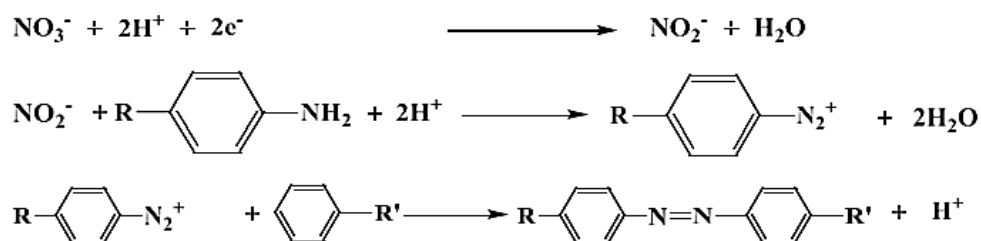


Figura 1. Reacțiile ce stau la baza metodei Griess

Cu toate plusurile metodei, ea posedă o sensibilitate slabă și posedă numeroase interferențe cu alți ioni, precum Cu^{2+} , Fe^{3+} , S^{2-} și I^- [52]. Deasemenea, pigmentii și antioxidanții precum acidul ascorbic, tiolii sulfhidrilici din probele alimentare pot afecta serios precizia acestei metode [6].

1.2. Metoda spectrofotometrică bazată pe reacția de nitrozare

Esența reacției constă în interacțiunea nitritului cu acidul barbituric în mediu acid cu formarea acidului violuric (un nitrosoderivat). Pe baza acesteia a fost dezvoltată o metodă spectrofotometrică de determinare a nitritului în apă [2]. Maximul de absorbție a fost depistat la 310 nm.

Burakham și colab. [38] a propus o nouă metodă spectrofotometrică de determinare a nitritului, precum și a nitratului în probele de apă, bazate pe reacția de nitrosare între ionul de nitrit și cloroglucinol

(1,3,5-trihidroxibenzen). Eroarea metodei reprezintă 1,5%, însă prezența ionilor Fe^{3+} semnificativ influențează asupra procesului de determinare cantitativă.

1.3. Metode spectrofotometrice catalitice

Aceste metode se bazează pe efectul catalitic al nitritului asupra oxidării unor compuși care ca urmare formează compușilor colorați. Ca exemplu putem propune: derivați substituiți ai fenotiazinei (fenotiazinei [45]; clorpromazinei [55]); coloranți alcalini ai triarilmetanului (cristal violet [4]); coloranți acizi ai triarilmetanului (pirogalol sulfonftaleină [10]; roșu de pirogalol [27]); coloranți azoici (tropaolin 00 [43]; roșu de metil [16]; sulfonazo III [48]); albastru de cresil [11]).

Drept agenți de oxidare în metodele spectrofotometrice catalitice se folosesc bromatul de potasiu, clorat de potasiu, permanganatul de potasiu, peroxidul de hidrogen, dintre care cel mai frecvent utilizat este bromatul de potasiu. Metodele date se aplică pe scară largă pentru determinarea nitriților în alimente, apă și probe biologice.

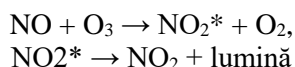
Cu toate acestea, multe dintre aceste metode consumă mult timp și sunt vulnerabile la interferențele cauzate de ioni precum Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ag^+ , SO_3^{2-} , Br^- și I^- [44]. Metodele spectrofotometrice catalitice utilizate pentru determinarea nitriților necesită un control strict a condițiilor de decurgere a reacției, cum ar fi aciditatea, temperatura și dozarea reactivului.

2. Metode chemiluminiscente

Chemiluminiscenta este o tehnică analitică, care prezintă numeroase avantaje cum ar fi simplitate, cost redus, siguranța și rata de emisie controlabilă. Datorită acestor avantaje, metodele date se aplică pe larg la determinarea nitriților [46, 26, 40, 34].

2.1. Chemiluminiscenta în faza gazoasă

Nitriții și nitrații se detectează prin reducerea anterioară până la oxid de azot și, ulterior, reacționează cu ozonul [13]:



Intensitatea CL rezultată din reacția de mai sus este proporțională cu concentrația de nitrit/nitrat.

În combinație cu sistemul de injecție cu flux, metodele CL devin mai eficiente, precum separarea mai eficientă și limite de detecție scăzute [60]. Dezavantajul semnificativ al metodelor CL în faza gazoasă constă în cerința ridicată la temperatura de ardere (600 °C). Prezența urmelor de oxigen în sistem vor duce la oxidarea NO până la NO_2 , astfel micșorând intensitatea chemiluminiscentei. La temperaturi ridicate (600 °C), NO_2 poate fi reconvertit în NO, compensând astfel valoarea interferenței cauzate de oxigen. În plus, în această metodă, este necesară utilizarea unui gaz inert pentru îndepărtarea oxidul de azot din apă din faza apoasă.

2.2. Luminol chemiluminiscenta

În afară de chemiluminiscenta în fază gazoasă, există multe alte metode CL bazate pe utilizarea unor reagenți, precum ar fi luminolul (5-amino-2,3-dihydroftalazin-1,4-dionă), lucigenină, tris(2,2-bipiridil)ruteniu(II) și derivații peroxioxalatului. Cea mai utilizată reacție chemiluminiscentă directă este oxidarea luminolului în mediu alcalin. Se formează anionul 3-aminoftalat excitat, care oferă o emisie puternică cu maxim la 425 nm [56]. Pentru determinarea nitriților de regulă se folosesc în calitate de oxidanți permanganatul de potasiu, hexacianoferatul (III) de potasiu sau peroxidul de hidrogen.

D. He și colab. [18] au propus o modalitate de analiză de injecție microflow pentru determinarea nitritului în legume și fructe. Nitritul se detectează prin reacția CL a luminolului cu ferricianura care se obține prin reacția ferocianurii și a nitritul în mediu acid. Domeniul liniar al concentrației de nitriți a fost 8 - 100 $\mu\text{g/l}$ și limita de detecție - 4 $\mu\text{g/l}$.

Metoda posedă unele dezavantaje, precum instabilitatea și reproductibilitatea rezultatelor obținute, numărul reactivilor care pot fi folosiți pentru determinarea nitriților este limitat.

3. Metoda electrochimică

Metodele electrochimice, în comparație cu alte metode, oferă o serie de opțiuni atractive, precum

costuri reduse și portabilitatea dispozitivelor utilizate. Nitriții sunt electroactivi pe electrozii de platină, aur, cupru, diamant, carbon sticlos și oxizii de metalelor de tranziție [9, 41]. Cu toate acestea, aplicarea electrozilor simpli este limitată, deoarece suprafața lor ușor poate fi dezactivată de prezența altor compuși, micșorând astfel precizia și sensibilitatea. Din acest motiv pentru determinarea nitriților se aplică electrozi modificați ce se caracterizează prin inertitate, sensibilitate și selectivitate ridicată. Electrozii modificați se obțin din nanoparticulele și nanoclusterelor metalelor și oxizilor metalelor, nanotuburile de carbon, citosan, pelicule electropolimerizate organice și anorganice.

Nanoparticule metalice (aurul, platină, paladiu, cupru, nichel, argint) datorită suprafeței lor voluminoase oferă o eficiență catalitică mai mare în comparație cu alte materiale, ceea ce conduce la o creștere a activității electrochimice. În general, electrozii modificați cu nanoparticule metalice prezintă performanțe bune, cum ar fi cataliza, îmbunătățirea transportului de masă, suprafața eficientă ridicată [59].

Este necesar de menționat și unele dezavantaje ale acestei metode. De exemplu, limitele de detectare a metodei date necesită a fi îmbunătățite, apar unele interferențe cu alți compuși în cazul sistemelor complexe.

4. Metoda cromatografică

Analiza directă a nitriților poate fi realizată prin majoritatea tehnicilor HPLC și cromatografiei ionice [12, 32, 20], însă cromatografia de gaze necesită modificarea chimică a compusului analizat [25]. Cele mai evidente dezavantajele ale metodelor cromatografice se referă la costul ridicat și complexitatea determinărilor, prezența personalului calificat.

Utilizarea HPLC este atractivă, deoarece metoda este mult mai rapidă, sensibilă și selectivă în comparație cu metodele spectrofotometrice și electrochimice. Cantitatea de nitriți și nitrați poate fi determinată direct prin detectarea absorbției UV la 210-220 nm sau determinând conductivitatea acestora. Cu toate acestea, majoritatea metodelor de analiză a nitriților și nitraților necesită o procedură de derivatizare, în care compușii determinați sunt transformați în produse ce absorb lumina la o lungime de undă specifică sau se caracterizează prin fluorescență [12, 32].

Metoda implică utilizarea reacției Griess, în prealabil prin HPLC separând nitrații de nitriți, nitrații apoi fiind reduși până la nitriți pe o coloană Cu/Cd.

Detectorul UV/VIS este cel mai larg răspândit și cel mai eficient detector utilizat în analiza HPLC datorită simplității sale. Cu toate acestea, detectoarele de absorbție UV și VIS pot interfera cu clorurile prezente în probele biologice. Din acest motiv sunt necesare proceduri de purificare ale probelor analizate. Detectarea electrochimică este mai sensibilă decât cea UV/VIS, dar de asemenea este susceptibilă la interferența clorurii.

Detectarea chemiluminiscentă și fluorescență posedă o sensibilitate mai înaltă și nu este afectată de prezența de clorurii, însă nu poate fi aplicată la o analiză simultană a nitritului și nitratului. Detectarea chimioluminiscentei suferă de obicei dezavantajul complexității în reacțiile post-coloană. De exemplu, Kodamatani și colab. [29] au dezvoltat o metodă de determinare a nitriților și nitraților în probele de apă bazată pe schimbul ionic, reacția fotochimică și detectarea chimioluminiscentă a luminolului.

Nici nitritul și nici nitratul nu posedă în sine fluorescență. De aceea, aceștia trebuie derivați cu pentru obținerea unor compuși stabili și fluorescenți. Metoda fluorometrică HPLC, ce implică derivatizarea pre-coloană a nitritului cu 2,3-diaminonafalena, oferă o sensibilitate și specificitate mai mare decât alte metode cu absorbție UV/VIS, electrochimice și detecție de chemiluminiscentă [18]. Cu toate acestea, metodele fluorometrice combinate cu HPLC necesită o procedură complicată de pregătire a probelor pentru eliminarea componentele nedorite.

5. Metoda electroforezei capilare

Electroforeza capilară este o tehnică care poate fi utilizată pentru analiza compușilor cationici, anionici și neutri. Posedă un șir de avantaje față de alte tehnici analitice, cum ar fi eficiența înaltă de separare, timp redus necesar pentru analiză, volume mici de substanță analizată, analiza simultană a unei mari varietăți de anioni. Determinarea nitritului în diferite probe se realizează prin izotacoforeza capilară [23] și electroforeza zonei capilare aplicând detectarea UV directă [15].

Deși cele mai utilizate principii de detectare în analiza EC a nitriților sunt absorbția UV și VIS, au fost, de asemenea, raportate metoda fluorometrică și electrochimică pentru analiza nitriților. Wang et al. [57] a propus o metodă fluorometrică EC pentru determinarea nitritului în plasma umană prin derivatizare cu 2,3-

diaminonafalenă. Nitritul în plasma umană a reacționat ușor cu compusul dat în mediu acid cu formarea a 2,3-naftotriazolului fluorescent. În plus, metoda fluorometrică combinată cu electroforeza capilară oferă unele avantaje precum, simplitatea și un cost mai mic în comparație cu metodele HPLC fluorimetrice actuale.

În timp ce electroforeza capilară poate fi aplicat direct la o serie de probe, există însă unele deficiențe. Principalul dezavantaj al coloanelor capilare constă în capacitatea lor restrânsă. Datorită diametrului mic și a traseului optic scurt al capilarului, sensibilitatea detectorului UV este scăzută. Unele materiale proteice sunt absorbite cu ușurință pe pereții capilarului, ceea ce duce la interferarea cu semnalul analitic sau deteriorarea echipamentului.

6. Metoda spectrofluorimetrică

Metoda spectrofluorimetrică este utilizată pentru detectarea nitriților datorită sensibilității și selectivității ridicate, limitelor de detecție excelente. Metodele spectrofluorimetrice se bazează pe modificarea intensității fluorescenței la interacțiunea probelor fluorescente cu nitritul.

6.1. Metoda spectrofluorimetrică bazată pe reacția de nitrozare

O serie de compuşii fluorescenți, cum ar fi resorcinolul [58] și 4-hidroxicumarina [59] pot reacționa cu nitritul în mediu acid cu formarea nitrosoderivaților. Unii reactivi care conțin amină secundară sau grupare amidă pot fi de asemenea folosiți pentru determinarea nitriților, deoarece după reacție cu nitritul se formează N-nitrosoderivați. De exemplu, Biswas și colab. [60] au propus o metodă spectrofluorimetrică pentru analiza nitritului bazată pe acțiunea de micșorare a fluorescenței în urma acțiunii nitritului asupra murexidului. Cu toate acestea, în această metodă, ionul de clorură interferează cu nitritul și ca urmare trebuie îndepărtat prin precipitare.

6.2. Metoda fluorimetrică bazată pe diazotizare

Sunt cunoscute metode spectrofluorimetrice pentru determinarea nitriților pe baza diazotizării aminelor aromatice cu nitrit în mediu acid cu formarea sării de diazoniu. Ulterioara modificare a intensității fluorescenței se folosește pentru analiza cantitativă a nitriților. Axelrod și colab. [1] au propus o metodă de determinare a nitritului pe baza creșterii intensității fluorescenței rezultată de interacțiunea a 5-aminofluoresceinei cu nitritul. De asemenea pentru determinarea nitritului a fost propusă utilizarea compușilor aromatici cum ar fi safranina O [22], roșu neutru [33] și acid folic [37].

6.3. Metoda electrochemiluminiscentă

Metodele electrochemiluminescente se utilizează pe scară largă în multe domenii datorită sensibilității ridicate și utilajului simplificat. În 2008, Ju et al. [36] au propus o metodă de detecție a electrochemiluminescenței a nitriților bazată pe efectul de micșorare a emisiilor anodice ale cuantodoturi CdSe. În 2013, Li și colab. [32] au propus o metodă rapidă pentru detectarea electrochemiluminiscenței a nitriților bazată pe efectul de atenuare a emisiilor ECL anodice de către Qd-uri CdSe. Metoda propusă permite determinarea conținutului nitritului cuprins între 1 μM și 0,5 mM cu o limită de detecție 0,2 μM , iar abaterea standard relativă pentru nitrit de 10 μM este de 1,72%.

Concluzii

S-au analizat diferite metode de determinare a nitriților și nitraților. Constatăm, că metoda cu aplicarea reacției Griess continuă să dețină o poziție dominantă datorită costului redus și a fezabilității ușoare. Cu toate acestea, această metodă este necesită mult timp și posedă o sensibilitate joasă și de interferențe din partea altor ioni. Stabilitatea și reproductibilitatea metodei chemiluminiscente s-a constatat de a fi joasă. Metodele electrochimice nu sunt potrivite pentru analiza urmelor de nitriți din motivul sensibilității joase. Cromatografia și electroforeza capilară au avantajul unei sensibilități ridicate, însă cerințele pentru procedurile de preparare și derivatizare a probelor și echipamentele specializate fac ca aceste metode să fie mai mult mai costisitoare decât metoda spectroscopică și electrochimică. Metodele electrochemiluminescente propuse pentru determinarea nitriților la moment nu sunt perfecționate suficient. În comparație cu alte metode metodele spectrofluorimetrice se evidențiază datorită simplității, comodității, sensibilității și selectivității sale ridicate, limitelor de detecție și costului redus.

Acknowledgments. The research was funded by State Project 20.80009.5107.09 “Improving of food quality and safety through biotechnology and food engineering”, running at Technical University of Moldova.

Referințe bibliografice:

1. H.D. Axelrod, N.A. Engel, Fluorometric determination of subnanogram levels of nitrite using 5-aminofluorescein, *Analytical chemistry*, 47 (1975) 922-924.
2. A. Aydın, Ö. Ercan, S. Taşcioğlu, A novel method for the spectrophotometric determination of nitrite in water, *Talanta*, 66(2005) 1181-1186.
3. M. Badea, A. Amine, M. Benzine, A. Curulli, D. Moscone, A. Lupu, G. Volpe, G. Palleschi, Rapid and selective electrochemical determination of nitrite in cured meat in the presence of ascorbic acid, *Microchimica Acta*, 147 (2004) 51-58.
4. G. Bagherian, M.A. Chamjangal, Z. Berenji, Kinetic spectrophotometric determination of trace amounts of thiocyanate based on its catalytic effect on the bromate-crystal violet reaction in biological samples, *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 3 (2008) 307-317.
5. S. Biswas, B. Chowdhury, B.C. Ray, A novel spectrofluorimetric method for the ultra trace analysis of nitrite and nitrate in aqueous medium and its application to air, water, soil and forensic samples, *Talanta*, 64 (2004) 308-312.
6. R. Burakham, M. Oshima, K. Grudpan, S. Motomizu, Simple flow-injection system for the simultaneous determination of nitrite and nitrate in water samples, *Talanta*, 64 (2004) 1259-1265.
7. T.Y. Chan, Food-borne nitrates and nitrites as a cause of methemoglobinemia, *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health*, 27 (1996) 189-192.
8. E.K.M. A. Calvin Bratton, Jr., and With the technical assistance of Dorothea Babbitt and Alma R. Hendrickson, A new coupling component for sulfanil-amide determination., *the Journal of Biological Chemistry*, 128 (1939) 537-550.
9. S.M. Da Silva, L.H. Mazo, Differential pulse voltammetric determination of nitrite with gold ultramicroelectrode, *Electroanalysis*, 10 (1998) 1200-1203.
10. A.A. Ensafi, B. Rezaei, S. Nouroozi, Simultaneous spectrophotometric determination of nitrite and nitrate by flow injection analysis, *Analytical sciences: the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, 20 (2004) 1749-1753.
11. A.A. Ensafi, M. Amini, A highly selective optical sensor for catalytic determination of ultra-trace amounts of nitrite in water and foods based on brilliant cresyl blue as a sensing reagent, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 147 (2010) 61-66.
12. L. Gapper, B. Fong, D. Otter, H. Indyk, D. Woollard, Determination of nitrite and nitrate in dairy products by ion exchange LC with spectrophotometric detection, *International dairy journal*, 14 (2004) 881-887.
13. H. Gary, Chemiluminescent and bioluminescent methods in Analytical Chemistry. A review, *Analyst*, 108 (1983) 1274-1296.
14. E.K.M. A. Calvin Bratton, Jr., and With the technical assistance of Dorothea Babbitt and Alma R. Hendrickson, A new coupling component for sulfanil-amide determination., *the Journal of Biological Chemistry*, 128 (1939) 537-550.
15. A. Gáspár, P. Juhász, K. Bágyi, Application of capillary zone electrophoresis to the analysis and to a stability study of nitrite and nitrate in saliva, *Journal of Chromatography A*, 1065 (2005) 327-331.
16. J. Ghasemi, A. Jabbari, A. Amini, A. Oskoie, B. Abdolahi, Kinetic spectrophotometric determination of nitrite based on its catalytic effect on the oxidation of methyl red by bromate, *Analytical letters*, 37 (2004) 2205-2214.
17. Y.-X. Guo, Q.-F. Zhang, X. Shangguang, G. Zhen, Spectrofluorimetric determination of trace nitrite with o-phenylenediamine enhanced by hydroxypropyl- β -cyclodextrin, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 101 (2013) 107-111.
18. D. He, Z. Zhang, Y. Huang, Y. Hu, Chemiluminescence microflow injection analysis system on a chip for the determination of nitrite in food, *Food Chemistry*, 101 (2007) 667-672.
19. E. Hegesh, J. Shiloah, Blood nitrates and infantile methemoglobinemia, *Clinica Chimica Acta*, 125 (1982) 107-115.

20. M.I. Helaleh, T. Korenaga, Ion chromatographic method for simultaneous determination of nitrate and nitrite in human saliva, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 744 (2000) 433-437.
21. K.-O. Honikel, The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products, *Meat science*, 78 (2008) 68-76.
22. Z. Huang, T. Korenaga, M.I. Helaleh, Kinetic spectrofluorimetric determination of nitrite in water samples and nitrogen dioxide in the atmosphere sampled by the liquid droplet method, *Microchimica Acta*, 134 (2000) 179-183.
23. N. Ishio, K. Fukushi, K. Michiba, S. Takeda, S.-i. Wakida, Optimum conditions for effective use of the terminating ion in transient isotachopheresis for capillary zone electrophoretic determination of nitrite and nitrate in seawater, with artificial seawater as background electrolyte, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 374 (2002) 1165-1169.
24. W.S. Jobgen, S.C. Jobgen, H. Li, C.J. Meininger, G. Wu, Analysis of nitrite and nitrate in biological samples using high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography B*, 851 (2007) 71-82.
25. S. Kage, K. Kudo, N. Ikeda, Simultaneous determination of nitrate and nitrite in human plasma by gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of analytical toxicology*, 26 (2002) 320-324.
26. Y. Kanda, M. Taira, Flow-injection analysis method for the determination of nitrite and nitrate in natural water samples using a chemiluminescence NO_x monitor, *Analytical sciences*, 19 (2003) 695-699.
27. A. Kazemzadeh, A.A. Ensafi, Simultaneous determination of nitrite and nitrate in various samples using flow-injection spectrophotometric detection, *Microchemical Journal*, 69 (2001) 61-68.
28. L. Knobeloch, B. Salna, A. Hogan, J. Postle, H. Anderson, Blue babies and nitrate-contaminated well water, *Environmental Health Perspectives*, 108 (2000) 675.
29. H. Kodamatani, S. Yamazaki, K. Saito, T. Tomiyasu, Y. Komatsu, Selective determination method for measurement of nitrite and nitrate in water samples using high-performance liquid chromatography with post-column photochemical reaction and chemiluminescence detection, *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009), 3163-3167.
30. B.R. Kozub, N.V. Rees, R.G. Compton, Electrochemical determination of nitrite at a bare glassy carbon electrode; why chemically modify electrodes?, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 143 (2010) 539-546.
31. D.H. Lee, Nitrates, nitrites, and methemoglobinemia, *Environmental Research*, 3 (1970) 484-511.
32. H. Li, C.J. Meininger, G. Wu, Rapid determination of nitrite by reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 746 (2000) 199-207.
33. R. Li, J.C. Yu, Z. Jiang, R. Zhou, H. Liu, A solid-phase fluorescent quenching method for the determination of trace amounts of nitrite in foods with neutral red, *Journal of Food and Drug Analysis*, 11 (2003) 251-257.
34. Z. Lin, W. Xue, H. Chen, J.-M. Lin, Peroxynitrous-acid-induced chemiluminescence of fluorescent carbon dots for nitritesensing, *Analytical chemistry*, 83 (2011) 8245-8251.
35. H. Liu, G. Yang, E. Abdel-Halim, J.-J. Zhu, Highly selective and ultrasensitive detection of nitrite based on fluorescent gold nanoclusters, *Talanta*, 104 (2013) 135-139.
36. X. Liu, L. Guo, L. Cheng, H. Ju, Determination of nitrite based on its quenching effect on anodic electrochemiluminescence of CdSe quantum dots, *Talanta*, 78 (2009) 691-694.
37. L. Lu, C. Chen, D. Zhao, F. Yang, X. Yang, A simple and sensitive assay for the determination of nitrite using folic acid as the fluorescent probe, *Analytical Methods*, DOI (2015).
38. C. Merusi, C. Corradini, A. Cavazza, C. Borromei, P. Salvadeo, Determination of nitrates, nitrites and oxalates in food products by capillary electrophoresis with pH-dependent electroosmotic flow reversal, *Food chemistry*, 120 (2010) 615-620.
39. R.B.R. Mesquita, M.T.S.O.B. Ferreira, R.L.A. Segundo, C.F.C.P. Teixeira, A.A. Bordalo, A.O.S.S. Rangel, Development of a sequential injection system for the determination of nitrite and nitrate in waters with different salinity: application to estuaries in NW Portugal, *Analytical Methods*, 1 (2009) 195-202.

40. P. Mikuška, Z. Večeřa, Simultaneous determination of nitrite and nitrate in water by chemiluminescent flow-injection analysis, *Analytica chimica acta*, 495 (2003) 225-232.
41. C. Milhano, D. Pletcher, The electrodeposition and electrocatalytic properties of copper–palladium alloys, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 614 (2008) 24-30.
42. M. Miró, A. Cladera, J.M. Estela, V. Cerdà, Sequential injection spectrophotometric analysis of nitrite in natural waters using an on-line solid-phase extraction and preconcentration method, *Analyst*, 125 (2000) 943-948.
43. Z. Moldovan, Kinetic Spectrophotometric Determination of Nitrite with Tropaeolin 00-Bromate System, *Analytical Letters*, 43 (2010) 1344-1354.
44. M.J. Moorcroft, J. Davis, R.G. Compton, Detection and determination of nitrate and nitrite: a review, *Talanta*, 54 (2001) 785-803.
45. A.T. Mubarak, A.A. Mohamed, K.F. Fawy, A.S. Al-Shihry, A novel kinetic determination of nitrite based on the perphenazine-bromate redox reaction, *Microchimica Acta*, 157 (2007) 99-105.
46. E. Nagababu, J.M. Rifkind, Measurement of plasma nitrite by chemiluminescence without interference of S-, N-nitroso and nitrated species, *Free Radical Biology and Medicine*, 42 (2007) 1146-1154.
47. M. Nakamura, Resorcinol as Fluorimetric Reagent for the Determination of Nitrate, *Analytical Letters*, 13 (1980) 771-779.
48. S. Nouroozi, R. Mirshafian, Flow injection kinetic spectrophotometric method for the determination of trace amounts of nitrite, *Talanta*, 79 (2009) 1149-1153.
49. T. Ohta, Y. Arai, S. Takitani, Fluorometric determination of nitrite with 4-hydroxycoumarin, *Analytical chemistry*, 58 (1986), 3132-3135.
50. E. Olajos, F. Coulston, Comparative toxicology of N-nitroso compounds and their carcinogenic potential to man, *Ecotoxicology and environmental safety*, 2 (1978) 317-367.
51. D. Reddy, J.R. Lancaster, D.P. Cornforth, Nitrite inhibition of *Clostridium botulinum*: electron spin resonance detection of iron-nitric oxide complexes, *Science*, 221 (1983) 769.
52. B. Rider, M. Mellon, Colorimetric determination of nitrites, *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*, 18 (1946), 96-99.
53. J. Sun, X. Zhang, M. Broderick, H. Fein, Measurement of nitric oxide production in biological systems by using Griess reaction assay, *Sensors*, 3 (2003) 276-284.
54. Y. Tanaka, N. Naruishi, H. Fukuya, J. Sakata, K. Saito, S.-i. Wakida, Simultaneous determination of nitrite, nitrate, thiocyanate and uric acid in human saliva by capillary zone electrophoresis and its application to the study of daily variations, *Journal of Chromatography A*, 1051 (2004) 193-197.
55. T. Tomiyasu, Y. Konagayishi, K. Aanazawa, H. Sakamoto. A kinetic method for the determination of nitrite by its catalytic effect on the oxidation of chlorpromazine with nitric acid, *Analytical sciences*, 17 (2001) 1437-1440.
56. A. Townshend, Solution chemiluminescence—some recent analytical developments. Plenary lecture, *Analyst*, 115 (1990), 495-500.
57. X. Wang, E. Adams, A. Van Schepdael, A fast and sensitive method for the determination of nitrite in human plasma by capillary electrophoresis with fluorescence detection, *Talanta*, 97 (2012) 142-144.
58. X. Wang, E. Adams, A. Van Schepdael, A fast and sensitive method for the determination of nitrite in human plasma by capillary electrophoresis with fluorescence detection, *Talanta*, 97 (2012) 142-144. Q.-H. Liu, X.-L. Yan, J.-C. Guo, D.-H. Wang, L. Li, F.-Y. Yan, L.-G. Chen, Spectrofluorimetric determination of trace nitrite with a novel fluorescent probe, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 73 (2009) 789-793.
59. C.M. Welch, R.G. Compton, The use of nanoparticles in electroanalysis: a review, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 384 (2006) 601-619.
60. F. Yang, E. Troncy, M. Francoeur, B. Vinet, P. Vinay, G. Czaika, G. Blaise, Effects of reducing reagents and temperature on conversion of nitrite and nitrate to nitric oxide and detection of NO by chemiluminescence, *Clinical chemistry*, 43 (1997), 657-662.
61. X. Yao, P. Yan, K. Zhang, J. Li, Preparation of water-soluble CdSe quantum dots and its application for nitrite detection in the anodic electrochemiluminescence, *Luminescence*, 28 (2013) 551-556.
62. Y. Zuo, C. Wang, T. Van, Simultaneous determination of nitrite and nitrate in dew, rain, snow and lake water samples by ion-pair high-performance liquid chromatography, *Talanta*, 70 (2006) 281-285.